

Aus der Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
des Robert-Koch-Institutes Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Hansjürgen Raettig

**Wirksamkeit einer oralen Immunisierung
mit verschiedenen, inaktivierten R-Stämmen
von *Salmonella typhi murium*
im Mäuseschutzversuch**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rainer Bartelheimer
aus Greifswald

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Referent: Prof. Dr. H. J. Raettig

Korreferent: Prof. Dr. V. Lenk

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 20. Juni 1973



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	5
B. Pathogenese	
1. Salmonellen	6
2. Salmonella typhi murium	8
3. R-Form	9
C. R-Formen	
1. Entwicklung der R-Formen	10
2.a Aufbau der O-Antigene	12
b Aufbau der T-Antigene	16
c Aufbau der R-Antigene	17
3. Differenzierung der R-Formen	23
4. Serologie	30
5. Genetik	32
6. Biosynthese	34
7. Variationen	37
D. Immunisierung	
1. Entwicklung	40
2. Lokale Immunisierung	41
3. Immunität	42
4. Spezifität	46
5. Resorption	49
E. Orale Immunisierungsversuche	
1. Material und Methoden	50
2. Ergebnisse	51

F.	Diskussion	59
G.	Zusammenfassung	65
H.	Literatur	66

A. Einleitung

Da seit Jahren Infektionen durch Salmonellen, Ruhrbakterien und Dyspepsie-Coli-Stämme zunehmen, ergibt sich die Notwendigkeit, einen Weg für eine breite Immunprophylaxe gegen diese Erreger zu finden. Da es aber nicht möglich ist, einen Impfstoff herzustellen, der so polyvalent ist, daß er alle Antigene dieser pathogenen Erreger enthält, müssen Impfstoffe gefunden werden, die einen entsprechend breiten, unspezifischen Schutz bieten.

M a r q u a r d s e n (71) hat bei der Prüfung von Kombinationsimpfstoffen aus Salmonella schwarzengrund und Escherichia coli zeigen können, daß dieser Impfstoff, obwohl nur die Hälfte der Antigenmenge enthalten war, einen ebenso wirksamen Schutz wie die monovalenten Impfstoffe lieferte. Ein Mischimpfstoff aus spezifischen und unspezifischen Antigenen zeigte signifikant wirksamere Ergebnisse. In diesem Fall also wurde eine Impfstoffverbesserung durch Adjuvantien festgestellt, die von R a e t t i g und Mitarbeitern (25, 50, 51, 118) sonst nicht erzielt werden konnte. Die Immunisierung mit Fraktionen von Bakterien zeigte unterschiedliche Ergebnisse. K o l b (53) konnte mit Zellwand- und Protoplasmafraktionen einen im Vergleich zum Ganzzellimpfstoff 50 %igen Schutz nachweisen. B i r n s c h e i n (6) und R o w l e y (106) erzielten mit RNS und Lipopolysacchariden von Salmonella typhi murium signifikante Schutzeffekte. Mit Lipiden und Proteinen dagegen ließ sich nur ein geringer Schutz herstellen (6). Es hat sich aber in diesen Versuchen gezeigt, daß eine Schutzwirkung nicht von einer exakt definierten Substanz herrührte, sondern daß das Ganzzellantigen den besten Schutz hervorruft (13, 93).

Diese Arbeit soll prüfen, ob es möglich ist, durch Immunisierung mit R-Stämmen eine gute, breite Immunität erreichen zu können.

B. Pathogenese

1. Salmonellen

Salmonellen lassen sich pathogenetisch in 3 Gruppen unterteilen:

- a) die primär-menschen-pathogenen, wie *Salmonella typhus* und *Salmonella paratyphus*, die eine zyklische Infektionskrankheit hervorrufen.
- b) die Salmonellen, deren primärer Wirt das Tier ist, aber menschen-pathogen sind, zum Beispiel *Salmonella typhi murium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella cholerae suis*. Sie gelten als Fleischvergifter und werden in Lebensmitteln, besonders häufig in Hackfleisch und Enteneiern gefunden. Sie wirken nicht als Einzelbakterien auf die Darmschleimhaut, sondern vermehren und zersetzen sich unter Endotoxinfreisetzung in Nahrungsmitteln schon vor dem Genuß, und rufen dann eine Lokalinfection der Darmschleimhaut hervor.
(H ö r i n g in 120)

- c) Nur tierpathogene Salmonellen wie *Salmonella abortus equi* und *Salmonella abortus ovis* (52, 120).

Die Pathogenität der Salmonellen der zweiten und dritten Gruppe ist erstens abhängig von der Menge der aufgenommenen Keime, zweitens von dem Allgemeinzustand des Wirtsorganismus und der Ak-

tivität des R E S sowie drittens von ihrer toxischen Eigenschaft (70 und 101). K a u f f - m a n n (46) weist darauf hin, daß die Pathogenität mindestens in zwei Faktoren eingeteilt werden muß: erstens die Virulenz und zweitens die Toxizität.

Die Virulenz von Salmonella-Kulturen wird am besten durch orale Infektion geprüft, sofern sie für ein Versuchstier enteropathogen sind, die Toxizität dagegen kann nur durch parenterale Injektion nachgewiesen werden, da weder abgetötete, noch die meisten lebenden Bakterien oder Bakterienextrakte bei oraler Gabe Krankheitserscheinungen auslösen. Virulente Stämme, wie zum Beispiel Salmonella typhi murium, sind gleichzeitig auch toxisch. Dagegen sind alle Salmonella-Spezies parenteral gegeben toxisch.

Alle drei Bedingungen müssen erfüllt sein. Die Salmonella-Enteritis wird als Infektion und nicht als Vergiftung bezeichnet. Das O-Antigen, auf dessen Aufbau später eingegangen wird, als Hauptursache der Infektivität, kann Fieber, Störungen des weißen Blutbildes, Erhöhung hormoneller und enzymatischer Aktivitäten (zum Beispiel der Proteolyse) bewirken (56). Alle Enterobacteriaceen und die meisten gram-negativen Bakterien produzieren Endotoxin, wobei zu bemerken ist, daß O-Antigene und Endotoxin zwar eng miteinander verbunden sind, aber getrennte Strukturen haben (33). Weder die Ursache der Salmonella-Pathogenität noch diejenige der Immunität ist heute bekannt. So ist auch über die Pathogenese der Salmonella-En-

teritis auf Grund von Nahrungsmittelinfectionen nur sehr ungenügendes Material vorhanden (46). Kaufmann hat jedoch festgestellt (42), daß die klinisch wichtigsten Salmonellen, das heißt die für den Menschen am stärksten pathogenen Vertreter ganz überwiegend zu den höchsten Chemotypen, das heißt, der Gruppe mit der Zahl der meisten Zuckerbausteine angehören. Offenbar besteht ein Zusammenhang zwischen dem relativ lipophilen Charakter der Zelloberfläche des Bakteriums und der Pathogenität.

Das Vi-Antigen, dem früher eine erhebliche Bedeutung in der Pathogenität zugesprochen wurde (20 und 58) ist nach neueren Untersuchungen (27 und 135) kein entscheidender Faktor für die Pathogenität.

2. *Salmonella typhi murium*.

Salmonella typhi murium ist in ca. 60 - 70 % der häufigste Erreger bei Salmonellosen (120). Bakterien vom Stamm *Salmonella typhi murium* (106) werden bei der Maus nach der Infektion hauptsächlich in der Leber und in der Milz gefunden. Es konnte gezeigt werden, daß ein Anstieg der Keimzahl nach der Infektion auf einen virulenten Stamm von *Salmonella typhi murium* hinweist, während ein avirulenter Stamm eine abfallende Keimzahl hat, wobei die Menge der getöteten Tiere eine Relation zur Virulenz im Organismus ist (106). Für Immunisierungs- und Infektionsmodelle ist dieser Stamm besonders geeignet, da der Krankheitsverlauf bei der Maus weitgehend dem des Menschen entspricht, und außerdem auf oralem Weg - wie beim Menschen - eine Infektion möglich ist (53).

3. R-Form

Hierzu ist als Vorbemerkung noch eine Klärung der Begriffe nötig. Während K r ö g e r (56), zur Unterscheidung von morphologischer und serologischer S-R-Mutation die Begriffe O-o- eingeführt und zur Unterscheidung der nur morphologischen Veränderung S-R- angegeben hat, unterscheidet K a u f f m a n n (43) die Ausdrücke S, T und R rein serologisch, während er die morphologisch glatt oder rauh wachsenden Kulturen Glatt-Formen (smooth forms) oder Rauh-Formen (rough-forms) nennt. Im Folgenden wird, falls nicht ausdrücklich betont, nur von der serologisch rauhen Form ausgegangen.

L i n g e l s h e i m (62) stellte schon 1913 bei den von ihm Q-Form genannten Rauhstämmen von *Salmonella typhi* einen erheblich geringeren Virulenzgrad fest. A r k w r i g h t (1) hielt R-Formen für avirulent, unterschied aber nicht morphologische und serologische R-Formen. K r ö g e r (58) zitiert eine Reihe von Autoren, die nachwiesen, daß serologische R-Formen avirulent sind. Er begründet die Avirulenz damit, daß nur das O-Antigen durch Einfluß auf das Leukocytensystem die Abwehrmechanismen, wie, Serumbakterizidie und Phagocytose des Wirtsorganismus stimulieren, und so zum Erhalt der Keimvirulenz beitragen kann. Diese Meinung wird auch von O s b o r n (80) und C a s e l l i t z (10) vertreten. Bis jetzt wurden keine virulenten Stämme beobachtet, denen die Lipidfraktion der Lipopolysaccharide fehlte. Es ist möglich, daß diese Teile des Lipopolysaccharids eine wichtige Rolle in der Abwehr-Physiologie des Wirtsorganismus spielen (80).

Bei Rauh-Mutanten, die sich nicht streng serologisch von den Glattstämmen unterscheiden, wurde eine verringerte Virulenz beobachtet, die sich aber durch geeignete Tierpassagen wieder auf die den Glatt-Stämmen entsprechende Virulenz steigern ließ (29, 70).

Die Toxizität ist im Gegensatz zur Virulenz nicht von der Anwesenheit von O-, Vi- oder Vi-ähnlichen Antigenen abhängig (58, 117), wobei zu bemerken ist, daß nach neueren Untersuchungen (27, 135) die Virulenz auch nicht vom Vi-Antigen abhängig ist.

Nach K r ö g e r (58) sollte die Toxizität unabhängig von der Antigen-Struktur betrachtet werden, da auch nach Beobachtungen japanischer Autoren, wie T a k e d a, K a s a i und K u w a j i m a den Nukleinsäuren eine größere Bedeutung zukommt, wie auch die immunologische Bedeutung der Nukleinsäure von R o w l e y (40) und H e r r m a n n (26) heute hervorgehoben wird.

R-Formen sind nicht völlig atoxisch (58, 76), jedoch nach Meinung verschiedener Autoren (20, 58, 76) weniger toxisch als die dazugehörigen O-Formen.

M a a l ø e (70) dagegen fand keinen signifikanten Unterschied in der Toxizität zwischen R- und O-Formen. Die T-Form von Salmonellen, eine Übergangsform bei der S-R-Mutation, auf die später noch genauer eingegangen wird, erwies sich für den Menschen als pathogen (10, 41).

C. R-Formen

1. Entwicklung der R-Formen

R-Formen von gram-negativen Darmbakterien wurden

nach unserer heutigen Definition zuerst von A r k w r i g h t (1, 2) 1920 beschrieben, nachdem 1902 und 1912 Rainer M ü l l e r und schon 1898 N i c o l l e diese Kolonietypen beobachtet hatten (nach 34). A r k w r i g h t bemerkte einen morphologischen Unterschied auf Grund von Dissoziationsvorgängen, d.h. dem Auftreten von spontanen oder artefiziellen Varianten. P r e i s s (nach 58) berichtete 1911 über avirulente Varianten von sonst virulenten Milzbrandbazillen. E i s e n - b e r g und B a u c h (nach 58) berichten von serologischen Dissoziationen. L i n g e l s h e i m (62) beschrieb 1913 Kolonien, die flach waren, mit relativ großem Durchmesser, trockener matter Oberfläche und die in Bouillon einen scholligen flockigen Bodensatz hatten, die er als Q-Form bezeichnete. A r k w r i g h t vermutet darin R-Formen. Weitergehende Untersuchungen über S-R Formenwechsel an gramnegativen Darmbakterien lieferten S c h ü t z e und W h i t e (nach 58). H u (nach 34) untersuchte 1936 Zellkulturen von Salmonella typhi murium und kam zu dem Ergebnis, daß Bakterien glatter Kolonien sich stumpfwinklig zueinander legen, woraus die kreisförmige glatte Kulturformation entsteht. Keime rauher Kolonien dagegen legen sich bei der Teilung in eine Linie, wodurch bei mehrfacher Teilung eine wellenförmige Struktur durch Zusammenschieben der Stäbchen entsteht. Einzelne Bakterien drücken sich heraus und bilden so die rauhe Oberflächenstruktur. R o e l c k e und I n t l e - k o f e r sowie S t e l l m a c h e r (nach 58) sind übereinstimmend der Überzeugung, daß die veränderte Morphologie der R-Kulturen auf eine plumpere Form und ein langsames Wachstum der Keime zurück-

zuführen ist.

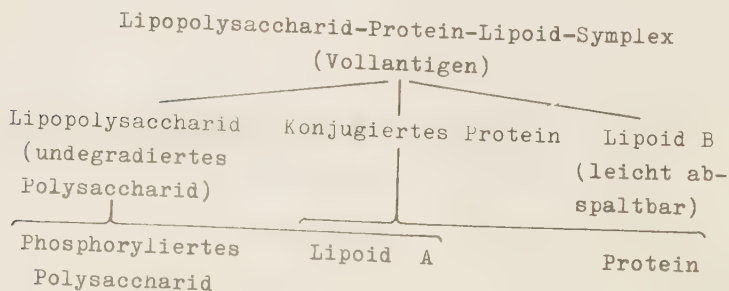
2a Aufbau der O-Antigene

Enterobakterien sind meistens aus 3 Antigenkomplexen aufgebaut:

- 1) den thermostabilen somatischen O-Antigenen
(O = ohne Hauch wachsend)
- 2) den thermolabilen Geißel = H-Antigenen
(H = mit Hauch wachsend)
- 3) den unterschiedlich wärmeempfindlichen K-Antigenen (K = Kapseloder Hüllantigen)

Die morphologische Beschaffenheit der Zelle wird zur Zeit so dargestellt, daß bei Vorhandensein des vollen Körperantigenkomplexes auf der 5nm dicken cytoplasmatischen Membran von Lipoproteid-Charakter die ebenfalls 5 nm dicke Auflage von Glykolipoiden (O-Antigen-Komplex) verankert ist. S t a u b (123) hat sich als erste der Strukturanalyse von O-Antigenen zugewandt. In darauf folgender gemeinschaftlicher Arbeit haben S t a u b , L ü d e r i t z und W e s t p h a l (64, 65, 66, 67, 68, 69, 63, 123, 130, 131, 132) und andere (4, 30, 42, 45, 77, 78, 79, 81, 85) die Struktur von Zellwandpolysacchariden auf immunochemischen und chemischen Wegen weitgehend geklärt.

Abb. 1 W e s t p h a l und L ü d e r i t z (130) geben die Zusammensetzung des O-Antigens in folgendem Schema wieder:



Am Aufbau der sogenannten genuinen Symplexe sind die Komponenten ungefähr folgendermaßen beteiligt: 45 - 60 % phosphoryliertes Polysaccharid, 5 - 15 % Phospholipoid A, 15 - 20 % Protein und 10 % Phospholipoid B. Der genuine Symplex wird im allgemeinen in einer Ausbeute von 5 - 10 % aus den Bakterien gewonnen (130).

Die allgemeine Formel der O-Antigene hat Ähnlichkeit mit den Strukturen anderer Zellbestandteile. Polyglykophosphatketten bilden auch im Lipoid A ein Gerüst, welches hier aus Glukosamin-Phosphat-einheiten besteht. Die OH und NH_2 -Gruppen des Glukosamins sind mit langkettigen Fettsäuren besetzt. Es wird angenommen, daß die Einheiten mit Phosphatbrücken verknüpft sind (63). Das Polysaccharidmolekül ist aus einem Kern (core) aufgebaut, an welchem lange Seitenketten, die die sogenannten "repeating units" enthalten, angebaut sind. Die "repeating units" enthalten die spezifischen Strukturen, die das O-Antigen bestimmen (81). In Analogie zu Robbins und Uchida kommen Luderitz und Westphal (63, 64) zu dem Schluß, daß O-Antigene aus Di-, - Tri-, - Tetra- und Penta-sacchariden (repeating units) aufgebaut sind. Sie weisen darauf hin, daß die als Oligosaccharid isolierte chemische Einheit nicht mit der biologischen Einheit identisch sein muß. Seltene Monosaccharide, die nicht in der Kernstruktur gefunden wurden, kommen häufig in den "repeating units" vor. Die Kernstruktur wird in allen Salmonellen für ähnlich gehalten (81).

Als Bausteine der O-Antigene können etwa 14 verschiedene Monosaccharide fungieren. In einigen O-Antigenen haben Luderitz und West-

p h a l (63) bis zu 8 verschiedene Zuckerbausteine gefunden. Alle Salmonella - O - Antigene enthalten jedoch 5 Zucker, die als basale Zucker bezeichnet werden. Die O-Antigene stellen kompliziert zusammengesetzte Heteropolysaccharide aus den 5 basalen Zuckern dar, zu denen bei den O-Antigenen noch ein, zwei oder drei weitere spezifische Zucker hinzukommen können. Die 5 basalen Zucker bilden das Rückgrat (backbone) für die daran hängenden O-spezifischen Seitenketten (67, 69)

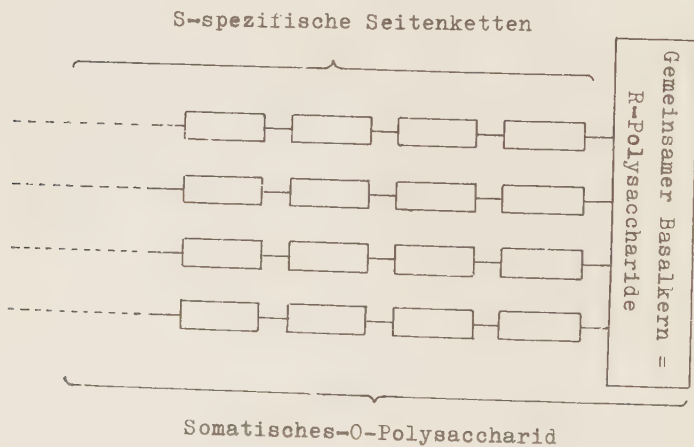


Abb. 2 Schematische Struktur von somatischen Salmonella O-Polysacchariden

Die qualitative Zuckerzusammensetzung von O-Antigenen der gleichen Gruppe A, B, C usw. ist stets gleich. Die ursprünglich nach rein serologischen Kriterien erfolgte Klassifizierung der Salmonellen in die Gruppen des K a u f f m a n n - W h i t e -

Schemas läßt sich also mit den Befunden der chemischen Antigen-Analyse koordinieren (42). Die spezifischen Salmonella Polysaccharide sind stark verzweigte Moleküle mit vielen Endgruppen. Den verschiedenen Endgruppen entsprechen jeweils die determinanten Faktoren des K a u f f m a n n - W h i t e -Schemas. Für die Gruppen A B C D usw. ist das Vorhandensein wenigstens eines determinanten Faktors charakteristisch. Andere Faktoren kommen in mehreren Gruppen vor und sind für die zwischen diesen Gruppen beobachteten partiellen Kreuzreaktionen verantwortlich. Die Serogruppen enthalten einen Zuckerbaustein aus der Klasse der 3-didesoxyhexosen (Paratose, Abequose, Tyvelose oder Colitose) der zugleich als determinanter Faktor charakteristisch ist. Paratose z.B. ist charakteristisch für die Salmonella-Gruppe A; denn sie dient dort als Baustein des gruppenspezifischen Faktors 2. Abequose erwies sich als typisch für die Gruppe B und C 2 und ist hier determinante Endgruppe des Faktors 4 (130). Bei einem Antigen von hohem Molekulargewicht wird die Spezifität nur von einem ganz kleinen Anteil des Gesamtmoleküls bestimmt. Daher konnten L ü d e r i t z , S t a u b und Mitarbeiter (68) ein künstliches Antigen mit Colitose als determinanter Gruppe entwickeln, das schwächere immunologische Wirkung zeigte und gegenüber natürlichem O-Antigen nicht toxisch war.

Die Arbeitskreise um K a u f f m a n n , S t a u b und W e s t p h a l beschäftigen sich damit, den einzelnen Faktoren die chemisch definierten Strukturen zuzuordnen.

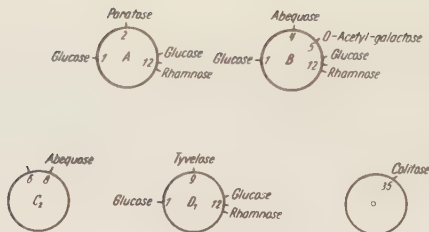


Abb. 3 Determinante Endgruppen in verschiedenen Salmonella-O-Antigenen
(nach 106)

2b Aufbau der T-Antigene

Eine mögliche Zwischenform in der S-R-Mutation ist die T-Form. Lingelsheim (62) nannte sie Q-Form, Caselitz (10) Ü-Form (Übergang) und Raus (102) I-Form (intermediate). Heute wird sie, Kauffmann (41) folgend, allgemein T-Form (transient) genannt.



Sie enthält anstelle des O-Antigens ein neues, bis dahin unbekanntes T-Antigen. T-Formen erscheinen morphologisch glatt und ergeben mit T-Seren Agglutination (67). Bisher sind zwei serologisch verschiedene T-Antigene beschrieben worden: T 1 bei *S. paratyphi* B, *S. typhi* murium, *S. san diego*, *S. anatum*, *S. senftenberg*, *S. taksony*, *S. dessau* und *S. friedenau*, T 2 dagegen nur bei *S. bareilly* (41).

Die Polysaccharide der T-Form entsprechen chemotypisch eher den R-Formen. T-Formen haben die allen Salmonellen gemeinsame Basalstruktur. T_1 enthält viel Galaktose und Ribose, T_2 dagegen keine Ribose (67).

Bei Untersuchungen mit *S. paratyphi* B, *S. typhi* murium und *S. bareilly* in S,- T,- R - Formen ergab sich, daß alle dem gleichen Chemotyp angehörten, sich bei genauerer Analyse aber serologisch als R - oder T -spezifisch unterschieden (65). S c h l o s s h a r d t (114) berichtet von einer Reihe von *S. typhi* murium Stämmen, die in die T_1 - Form umgezüchtet wurden, und bei denen eine Veränderung der Phagensensibilität für *Salmonella*-Typ-Phagen stattfand.

2c Aufbau des R-Antigens

Das R-Antigen besteht aus einer Kette von Polyheptosephosphaten, welche von einer K D O - Einheit (= 2 keto-3-deoxyoctonat) abgeschlossen wird. An diese Ketten sind kurze Seitenketten aus Gykosyl- und Galaktosyl-Resten geknüpft, welche terminal einen Acetyl-Glukosaminylnrest tragen. Unspezifisches basales Polysaccharid und spezifische Polysaccharid-Seitenketten bilden zusammen das O-spezifische Polysaccharid-Hapten. In der Zellwand stellt dieses Hapten ein lipoid- und protein-gebundenes komplettes O-Antigen dar. Die Lipoid-Komponente, das sogenannte Lipoid A, besteht aus D-Glukosamin, langkettigen Fettsäuren und Phosphorsäuren. Wahrscheinlich enthalten alle *Salmonella*-Stämme das gleiche Lipoid A (15). Über Bindungen und Struktur dieser hochmolekularen Komplexe ist nur wenig bekannt. Im Gegensatz zur Wild-Form,

welche durch das spezifische O-Antigen charakterisiert ist, enthält die R-Mutante ein relativ unspezifisches R-Antigen. K a u f f m a n n (43) vermutete auf Grund von serologischen Untersuchungen, daß für alle Glattformen der Salmonellen nur eine R-Form existiert. Die Zuckerzusammensetzung dieser R-Form war einfacher als die der Glatt-Form, das heißt, diese Form wurde als Mangelmutante angesehen. Diese Vermutung wurde dadurch bestätigt, daß milde Hydrolyse von S-Lipopolysacchariden zu Substanzen führte, die stark mit Salmonella-R-Antiserum reagierten (43). L ü d e r i t z und Mitarbeiter (67) fanden aber neben der K a u f f m a n n 'schen R-Form eine Reihe weiterer R-Formen. Alle bisher gefundenen R-Formen lassen sich serologisch und auf Grund der Zuckerzusammensetzung ihrer Lipopolysaccharide in fünf verschiedene Chemotypen, R a, R b, R c, R d, R e, einteilen.

Chemotyp	KDO	Hexose	Glukose	Galaktose	Glukosamin ¹⁾
R _a	+	+	+	+	+
R _b	+	+	+	+	-
R _c	+	+	+	-	-
R _d	+	+	-	-	-
R _e	+	-	-	-	-
Mutante	-	-	-	-	-

r 630

Tabelle 1. Zuckergehalt der Antigenpolysaccharide einiger R-Mutanten von Salmonellen (nach 120)

¹⁾ Neben dem hier angeführten Glukosamin des Polysaccharidanteils ist auch im Lipoid A aller bisher

K r ö g e r, w e s t p n a l und L ü d e r i t z (56, 64, 65) fanden, daß in den Lipopolysacchariden aus *S. paratyphi* B und *S. enteritidis* von R-Formen die chromatographisch schneller wandernden Zuckerbausteine der S-Formen fehlten: Mannose, Rhamnose, Abequose, Tyvelose. Diese Befunde wurden von anderen Autoren, auch für *Shigella shigae* und *Pasteurella pseudotuberculosis*, bestätigt. So zeigte D a v i e s (14), der ausgedehnte Untersuchungen über R-Formen aus der *Pasteurella*-Gruppe unternommen hat, daß die Zellprodukte von rauhen *Pasteurella pseudotuberculosis* ausgesprochen ähnlich in der Zusammensetzung sind wie die somatischen Rauh-Polysaccharide von *Pasteurella pestis* und weist auf den engen serologischen Zusammenhang hin.

Es zeigt sich dabei auch, daß ein Verlust des Synthesevermögens für die lipophilen Zuckerbausteine eintritt (42, 56, 65). Diese Zuckerbausteine werden nicht durch S-Form-fremde Zucker ersetzt. Daher nennen L ü d e r i t z und Mitarbeiter (65) R-Formen auch Verlust-Mutanten bzw. Minus-Varianten. Diese Meinung wird inzwischen einhellig vertreten (14, 117, 150).

Die Struktur des inneren Teils des basalen Polysaccharids stellt das Antigen der M-Mutanten (= mutable type, nicht Mucoid), von *S. typhi murium* dar, das identisch mit dem Chemotyp R_C ist. Es handelt sich um eine Galaktosedefekt - Mutante (UDP-Galaktose - 4 - Epimerase), die von M u r a s e entdeckt und von F u k a s a w a und N i k k a i d o (22) eingehend untersucht wurde. Im Gegensatz zur R₁-Mutante wird in der M- Mutante das spezifische lösliche Polysaccharid nicht gebildet, da

Galaktose ein Baustein der O- spezifischen Kette in *Salmonella typhi murium* ist. Außerdem werden die spezifischen Zucker nicht auf die Lipopolysaccharide transferiert, da in Anwesenheit von UDP-Galaktose der Acceptor, die intakte Basalstruktur, nicht synthetisiert wird. Den Nachweis hierüber kann man führen, indem man Galaktose zur wachsenden M-Kultur gibt und dann feststellen kann, daß das O-Antigen aufgebaut wird, und aus der M-Mutante phänotypisch eine S-Form geworden ist. N i k k a i d o (nach 63) hat als erster über die M-Mutante von *Salmonella typhi murium* berichtet, und O s b o r n (81) hat das M-Polysaccharid analysiert und festgestellt, daß es im wesentlichen aus Glukose und Heptose-Phosphat-Ketten besteht, an deren Ende reduzierte KDO gebunden ist. Das Glukose- Heptose-Phosphatverhältnis ist etwa 0,5 : 1 : 1.

Zur Frage der chemischen Identität von *Salmonella* R-Polysacchariden gibt K a u f f m a n n (45) zu bedenken, ob es sich bei den beiden stets vorhandenen Hexosen Galaktose und Glukose immer um die gewöhnlichen D-Formen handelt. Diese Frage konnte auch von D r ö g e (31), der umfangreiche Untersuchungen über quantitative Zuckeranalysen und die Bindungen der Heptose unternommen hat, nicht geklärt werden. Auf Grund eingehender Untersuchungen von L ü d e r i t z und Mitarbeitern (64) ist, wie schon erwähnt, bekannt, daß die O-Antigenfaktoren ein und desselben *Salmonella*-Serotyps im gleichen Polysaccharid verankert sind, und daß *Salmonellen* und andere Enterobakteriaceen nur ein spezifisches Zellwandpolysaccharid bilden. Danach ist es wahrscheinlich, daß auch die *Salmonella* R-Formen ein

R-spezifisches Polysaccharid und nicht Gemische qualitativ verschiedener Polysaccharide bilden. Auf Grund der bisherigen Resultate sei nach K a u f f m a n n (45) noch nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen, daß das R-Polysaccharid als solches auch in S-Formen neben dem S-Polysaccharid vorliegt. Demgegenüber konnten andere Autoren (3, 45, 64, 65, 69, 117, 131) nachweisen, daß die Lipopolysaccharide der Salmonella S-Formen (O-Antigene) aus einem basalen Lipopolysaccharid von R-Charakter hervorgehen, an welches die S- spezifischen Seitenketten angelagert sind. Nach der S-R-Mutation erfolgt die Biosynthese in der Zellwand nur bis zu einem basalen R-Lipopolysaccharid (R-Antigen), während die weiteren Syntheseschritte in Richtung der R- spezifischen Seitenketten durch Enzymblock unterbrochen sind. Diese Theorie wird gestützt durch Kröger (57) und andere Autoren, die R-Rezeptoren in S-Varianten von Salmonellen nachwiesen, sowie R a u s s und Mitarbeitern(103), die im Extrakt von Shigella sonnei aus dem somatischen Antigen des Glattstammes auch serologische Spezifität des Rauh-Stammes nachwiesen. S c h m i d t (117) stellt sich bei den reversiblen (wahrscheinlich nur morphologischen) R-Formen eine Umschichtung der O- und R- Antigene von innen nach außen und umgekehrt vor. Es könnte dies bedeuten, daß die-vielleicht mit Rauh-Antigenen weitgehend identischen-Eiweißsubstrate der zytoplasmatischen Membran nunmehr die Oberfläche des Bakteriums bilden (58).

Für diagnostische und epidemiologische Zwecke ist die qualitative Bausteinanalyse nicht geeignet. Ihr Ziel ist die Aufklärung der Immunchemie der Antigene

und die Herausarbeitung vergleichender biochemisch-enzymatischer, sowie genetischer Aspekte (42).

3. Differenzierung

Die Notwendigkeit, R-Formen identifizieren und differenzieren zu können, ergibt sich bei der Stammhaltung, bei Massenkultivierung und Verwendung der Stämme zur Herstellung spezifischer Antisera (111). Immunochemische Antigenanalysen sind dafür zu aufwendig und zeitraubend (67).

Die ersten Differenzierungen von Salmonellen mit Antigen-Schemata auf der Basis des K a u f f - m a n n - W h i t e - Schemas machten K a u f f - m a n n und P e r c h (46a).

K r ö g e r (58) und P r i t t w i t z und G a f f r o n (86) berichteten über Untersuchungen von S- und R-Stämmen, die ergaben, daß junge S- und R-Stämme makroskopisch auf festem Nährboden nicht zu unterscheiden sind, während sich im Mikroskop bei geringerer Vergrößerung auffällige Änderungen von Stäbchengroßverbänden zeigen. Die anfängliche Überlegung, ob diese Gruppierung mit bestimmten Antigeneigenschaften des Bakteriums (Vorhandensein oder Fehlen des O-Antigens) ursächlich verknüpft sei, wurde nach genauerer Untersuchung verneint (58).

Die Formeigenschaften S und R lassen sich nicht in morphologischen Kriterien eines einzelnen Bakteriums zeigen, sondern nur im Zellverband (86). K r ö g e r sprach deshalb von einem "Gruppen- oder Gemeinschaftskriterium" im Gegensatz zu einem "Individualsymptom" (58). F e l i x und P i t t (20) sprechen der R-Form bessere Anpassungsfähigkeit und größere Anspruchslosigkeit bei künstlicher Kultivierung zu.

In flüssigen Nährmedien läßt sich ein makroskopischer Unterschied schon daran feststellen, daß S-Formen eine gleichmäßige Trübung zeigen, während sich bei R-Formen eine klare Flüssigkeit mit deutlichem Bodensatz ergibt. P r i g g e und K i k s c h (85) dagegen erwähnen hierzu, daß dies kein Phänomen sei, das zur Unterscheidung S oder R geeignet sei. Die Autoren führen eine S-Variante eines Shiga Ruhr-Stammes an, die unabhängig von ihrer Morphologie stets diffus wuchs. Die R-Variante setzte sich ab und bildete einen Bodensatz. Der Grund der unterschiedlichen Suspensionsstabilität liegt nach Ansicht dieser Autoren in der verschiedenartig antigenen Struktur.

Nach W e s t p h a l und L ü d e r i t z (132) tritt bei der S-R-Mutation mit der Veränderung der Morphologie zugleich auch eine Abnahme der Zellstabilität ein. R-Zellen agglutinieren in flüssigen Medien sogar häufig spontan, während S-Formen überhaupt keine Spontanagglutination zeigen. C a s e - l i t z (10) erklärt Spontanagglutination in physiologischer Kochsalzlösung, die er auch bei T-Formen beobachtete, mit einer Änderung der Grenzfläche im andersartigen Elektrolytmedium. G a l a n o s , L ü d e r i t z und W e s t p h a l (24) beschrieben eine Methode, Lipopolysaccharide von R-Formen zu extrahieren. Diese Methode geht davon aus, daß S- und T-Form-Lipopolysaccharide, wie auch Proteine und Nucleinsäuren unlöslich sind, während R-Form-Lipopolysaccharide unter bestimmten Bedingungen löslich sind. Als Hilfsmittel zur Differenzierung können physikalische, chemische und bakteriologische Methoden verwandt werden.

1. Physikalisch:

C a s e l i t z (10) zeigte Unterschiede zwischen R- und T-Formen bezüglich der Agglutination im heissen wasserbad. R-Stämme fallen regelmäßig bei 60°C aus, während T-Stämme bei 100°C erst agglutinieren. Er zeigt, daß der Übergang von S- zu R schrittweise erfolgt und daß neben R-Antigen O-Antigen vorhanden sein kann. Reine R-Formen können O-Agglutinine im Gegensatz zu T-Formen nicht mehr entfernen. Auch S c h l e c h t (111) unterschied mit dem Hitzestabilitätstest zwischen S- und R-Formen und fand innerhalb von R-Formen, die hinsichtlich ihres R-Chemotyps untersucht waren (64, 67), Unterscheidungsmerkmale.

2. Chemisch:

W h i t e (nach 117) behandelte Bakterien mit Alkohol, Äther und Chloroform und veränderte damit ihre Salzempfindlichkeit, die sie nach Entzug des Alkohols wieder erhielten. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um alkohollösliche Phosphatide, die im Rauh-Zustand die Oberfläche der Bakterien ausmachen, sonst aber von den hydrophilen polysaccharidhaltigen spezifischen Antigenen O und Vi mehr oder weniger verdrängt sind (S -Form). Erhitzen der Rauh-Formen macht ihre Salzempfindlichkeit irreversibel. S c h l e c h t (111) und K r ö - g e r (58) unterschieden S- und R-Formen durch Agglutination in Auraminlösung. H u m m e l (34) konnte R-Formen durch Agglutination in Metallsalzlösungen differenzieren und hatte teilweise auch Erfolge mit NaCl und Farbstofflösungen. R-Formen müssen Trypaflavin-agglutinabel sein, umgekehrt muß nicht bei Trypaflavinagglutination R-An-

tigen vorhanden sein (11). Eine Hemmung der Trypaflavinagglutination durch höhere NaCl-Konzentration beruht auf stärkerer Absorption der Chlor-Ionen durch R-Stämme im Vergleich zu S-Stämmen. Was im chemischen Sinne die R-Phase von der S-Phase unterscheidet, läßt sich heute noch nicht genau angeben (117). Sicher aber ist die Trypaflavin-Agglutination kein sicheres Kriterium für R-Wachstum. Glattformen von Salmonella-Bakterien ohne Vi sind Säure-inagglutinabel (117, 119).

Wenn man aber Glattformen genügend lange erhitzt, wobei Antigen in Lösung geht, können manche Stämme nach dem Erhitzen eine Säureagglutination in der pH 2-3-Zone zeigen, die von S c h m i d t (117) dem R-Antigen zugeschrieben wird.

Die Bildung von R-Formen kann durch die Anwesenheit bestimmter organischer Säuren durch Zusatz von Ammoniak oder Nitrit bei Einstellung eines optimalen pH-Wertes erreicht werden. S c h l o s s - h a r d t (115) erklärt die Wirkung dieser Reagentien auf Aminierungs- oder Desaminierungs-Reaktionen an den Pyrimidin - und Purinbasen der Nucleinsäuren. Sie fand bei der Durchführung der Ammoniakversuche einen differenten R-Form-Typ, den man in Anbetracht seiner Fähigkeit zu wuchern und aus dem Zellverband herauszuwachsen als Wucherungs-Zelltyp bezeichnete. Er hat wahrscheinlich geänderte fermentative Eigenschaften.

Eine weitere chemische Differenzierungsart ist das Verhalten gegenüber Antibiotika. Gegenüber verschiedenen Antibiotika und antibakteriellen Farbstoffen weisen R-Mutanten Empfindlichkeitsunterschiede auf, die Zusammenhänge mit dem R-Chemotyp erkennen lassen. So nehmen gegenüber Erythromycin-glukoheptonat,

Rivamycin SV, Bacitracin, Kristallviolett und Malachitgrün die Empfindlichkeit von Chemotyp Ra zum Typ Re zu. Der umgekehrte Effekt tritt gegenüber Tetracyclin, Oxytetracyclin und Dimethyltetracyclin ein. Durch Natrium-Desoxycholat wurde diese Form stärker gehemmt als alle übrigen Mutanten (110, 111).

3. Bakteriologisch:

gibt es drei verschiedene Differenzierungsmethoden

1. Das Verhalten auf verschiedenen Nährböden
2. Lysotypie
3. Antiseren.

H u m m e l (34) erhielt bei der Prüfung von morphologischen R-Formen auf Endo- und Wismutagar ein glatteres, auf Traubenzucker ein rauheres und auf Trypsin-Alanin-Agar ein eher glattes Wachstum. Das Wachstum in Bouillon erwies sich als ein einfaches und relativ sicheres Untersuchungsmerkmal zwischen R- und S-Formen.

Lysotypie ist zur Differenzierung seit 1921 bekannt. Es gibt heute folgende Möglichkeiten zur Differenzierung von Bakterien (7, 8, 61, 67, 114, 116, 127):

1. Typisierung mit empirisch gefundenen Typisierphagen
2. Typisierung mit adaptierbaren Phagen
3. Typisierung durch Nachweis der natürlichen bzw. typenbestimmenden Phagen.

B u r n e t (nach 7) zeigte mit seinen Untersuchungen über Änderungen der Phagenempfindlichkeit bei O-Antigenwechsel, daß es Phagen gibt, die nur

Glattformen, andere, die nur Rauh-Formen und solche, die beide Formen angreifen. Beim Übergang von der S- in die R-Form geht die Empfindlichkeit für S-spezifische Phagen verloren. Dagegen werden sie zu Anti-R-Phagen, das heißt, sie werden sensibel für R-Formen. Brandis (7) überführte mit Anti-R-Phagen R-Stämme von Paratyphus B- in Paratyphus B - S-Stämme. Für die Differenzierung von Mutanten unterschiedlichen R-Chemotyps erwies sich die Phagentypisierung als nicht ausreichend geeignet (114, 116) S c h l e c h t (111) konnte zwar eine Unterscheidung von S- und R-Formen machen, aber nur eine ungenügend exakte Differenzierung der R-Mutanten entsprechend ihrem R-Chemotyp. Er konnte alle R-Mutanten mit Hilfe von 5 Phagen nach ihrem Reaktionsmuster typisieren und dem sogenannten individuellen Phagentyp zuordnen. Auch S c h l o s s h a r d t (115) berichtet über Schwierigkeiten bei der Differenzierung von R-Formen mit Hilfe von Phagen, da bestimmte R-Zwischenformen nicht von den Phagen erfaßt werden können. Keiner der Phagen ist spezifisch für eine Gruppe, aber es scheint so, daß in einigen Fällen die Phagen spezifisch für eine Gruppe von Mutanten sind. Die Phagenrezeptoren dieses Systems sind nicht bekannt. Es ist möglich, daß einige Rezeptoren nicht als Polysaccharide in der Natur vorkommen (127).

L ü d e r i t z und Mitarbeiter (67) untersuchten 25 verschiedene Mutanten von Salmonellen und konnten sie durch die Zuckerzusammensetzung ihrer Lipopolysaccharide, ihre Reaktion mit R-Antisera und mit Phagen in 7 Gruppen einteilen. Die Tatsache, daß viele Antisera mit den Lipopolysacchariden

verschiedener Gruppen reagieren, während andere nur für eine R-Gruppe spezifisch sind, erklären L ü d e r i t z und Mitarbeiter damit, daß die Heptose in den Lipopolysacchariden des Chemo-Typs Rd die Rolle des spezifitätsbestimmenden Zuckers hat. In einer weiteren Arbeit untersuchten L ü d e r i t z und Mitarbeiter (69) 11 Salmonella S-Formen verschiedener Chemotypen in Kreuzreaktionen mit R-Antiseren. Dabei gab es bei den niederen Chemotypen I, II, V häufig Kreuzreaktionen, die auf das jeweilige S-Lipopolysaccharid, das zugleich S- und R-Spezifität hat, zurückgeführt wurde. Bei höheren Chemotypen lassen sich R-spezifische Strukturen nach Partialhydrolyse mit verschiedenen Säuren serologisch nachweisen. L i n d b e r g und H o l m e (61) konnten, besonders durch die Hämagglutinations-Hemmungstechnik, Gruppenhomogenität bei R-Mutanten in Anbetracht ihrer immunologischen Spezifität zeigen. Kreuzreaktionen zwischen Mutanten, die zu verschiedenen Phagen-Gruppen gehörten, wurden auf Grund der Kohlehydratzusammensetzung der Lipopolysaccharide erklärt. Lipopolysaccharide aus rauhen Stämmen von verschiedenen Salmonella-Spezies wurde serologisch differenziert durch Hämagglutination und Hämagglutinations-Hemmungsreaktionen (64). Im Gegensatz zu den verschiedenen O-Spezifitäten der Salmonella S-Formen wurden nur wenige Spezifitäten bei dem R-Antigen gefunden, unabhängig von dem Serotyp, von dem der R-Stamm abgeleitet wurde.

4. Serologie

Im Gegensatz zu den vielfältigen O-Spezifitäten haben die R-Formen nur wenige Kreuz-Reaktions-Spezifitäten, unabhängig, von welchem Serotyp sie abgeleitet sind (67). R-Mutanten synthetisieren relativ einfach gebaute R-spezifische Lipopolysaccharide, die für das serologische Verhalten entscheidend sind (120). Beckmann, Subbiah und Stocker (4), sowie Beckmann, Lüderitz und Westphal (3) fanden in Untersuchungen über serologisches und chemisches Verhalten der Lipopolysaccharide von Rauh-Mutanten, daß sie durch Hämagglutination und Hämagglutinations-Hemmungsmethoden in 2 Hauptserotypen, R I und R II einzuteilen sind. Beckmann (4) prüfte 15 der von Subbiah und Stocker (127) genetisch untersuchten Mutanten und fand, daß die Lipopolysaccharide der rou-A Mutanten serologisch zum Typ Salmonella R I und die der rou-B Mutanten serologisch zum Typ R II gehören. Sie fanden, daß alle rou-A und rou-B-Lipopolysaccharide dieselben 4 Zucker, Hexosamin, Heptose, Galaktose und Glukose enthielten und bestätigten damit die Ergebnisse von Kauffmann und Mitarbeitern (45). Risse und Mitarbeiter (105) ermittelten bei R I- und R II-Mutanten von S. minnesota und S. riu die Zuckeranteile und fanden bei der R I Mutante 14 % Heptose, bei der R II Mutante nur 7 %. Die unterschiedliche serologische Reaktionsweise (R I oder R II) erklären Beckmann und Mitarbeiter (4) als Ausdruck verschiedener Aufbauweise dieser Bausteine in den determinanten Gruppen, möglicherweise auch in den Seitenketten, die aus Galaktose und Glukose bestehen. Sie konnten bei der Mehrzahl von Mutanten der Klasse

rou A Material aus Polysacchariden mit O-serologischer Aktivität finden. Diese Substanzen, die glatt-spezifische Zucker enthalten, haben ein geringes Molekulargewicht, und scheinen Haptene zu sein. Rou-B-Mutanten dagegen enthielten keinerlei O-spezifische Substanzen (4). Im Gegensatz dazu konnten H o l m e , L i n d b e r g und Mitarbeiter (30, 31) S-spezifische "repeating units" in Lipopolysacchariden von R-Mutanten Ra - Re nachweisen. L ü d e r i t z und W e s t p h a l (63) konnten darstellen, daß in R II-Zellen ein peripherer Defekt vorliegt, welcher die Synthese der spezifischen Seitenketten des O-Antigens betrifft. R I Zellen besitzen einen tieferen Defekt, welcher zur Synthese (eines im Vergleich zur R II) -struktur-reduzierten Polysaccharids führt. Bei der Biosynthese des O-Antigens bildet demnach R I eine Vorstufe zu R II (105). Unterschiede der Lipopolysaccharide von R I und R II könnten nach N i k k a i d o (77) darin liegen, daß die O-spezifischen Substanzen der R I Mutanten in Glattstämmen Vorläufer der O-spezifischen Lipopolysaccharide seien. Daraus bliebe nachzuweisen, ob die Mutation in der Rauh-B-Stelle (R II) die Synthese dieses haptischen Materials verhindert.

Den Serogruppen R I und R II liegen mindestens zwei Polysaccharid-Strukturen zugrunde. Diese sind wahrscheinlich Zwischenstufen zwischen dem Polyheptosephosphat-Glukosekern, der von den M-Mutanten produziert wird, die nicht imstande sind, Galaktose einzubauen und den O-Lipopolysacchariden (63). Beim Übergang von der S- zur R II-Form tritt ein teilweiser Verlust von Galaktosamin auf. Sie enthalten jedoch einen großen Anteil an Lipoid A und Peptiden

(42). Die Mutation zur R I-Form führt zum vollständigen Verlust beider Hexosamine, und damit zu einem reduzierten Antigen.

Aus der Tatsache, daß K a u f f m a n n aus Salmonella minnesota zwei R-Mutanten verschiedenen Serotyps isolieren konnte, schliessen L ü d e r i t z und W e s t p h a l (63), daß es prinzipiell möglich sei, aus jeder Salmonella S-Form mindestens eine R I und eine R II Mutante zu isolieren, und daß mit Hilfe weiterer R-Antisera eine Differenzierung in weitere R-Gruppen möglich wäre, wobei sie eine Aufspaltung der R I-Gruppe erwarten würden.

5. Genetik

S u b b i a h und S t o c k e r (126, 127) fanden bei genetischen Untersuchungen, daß die Lokalisation des Enzymdefektes an zwei Gruppen von jeweils benachbarten Stellen, die sie als Rou A und Rou B bezeichneten, liegt. Diese Untersuchungen wurden mit Kreuzreaktionen und nachfolgenden Analysen durchgeführt. Rau-Mutanten der Klasse Rou A und Rou B sind in verschiedenen Stufen der Synthese von glatten Polysacchariden durch Enzymdefekt blockiert. Mutation in Rou A führt zu Mutanten, welche nach den Untersuchungen von B e c k m a n n (4) zur Serogruppe I gehören, Mutation in Rou B zu R II-Mutanten. Demnach ist Rou A für die Synthese der Basalstruktur, Rou B für die der spezifischen Seitenketten des O-Antigens wesentlich. Die Biosynthese allgemeiner und spezifischer Strukturen im O-Antigen wird also offensichtlich genetisch ge-

trennt gesteuert.

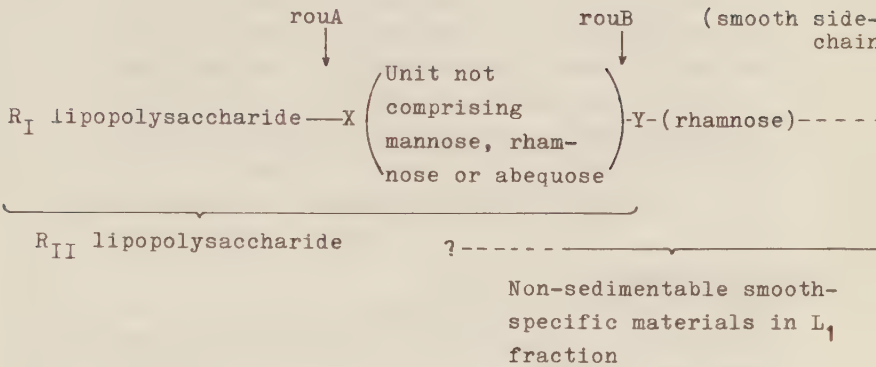


Abb. 5 Schema über den Einfluß von rou A und B Mutationen auf die Lipopolysaccharidsynthese (66)

O s b o r n (80) führte ausgedehnte Untersuchungen durch über die Biosynthese der Lipopolysaccharide der Zellwand. Zusammen mit N i k k a i d o (77) kommt er zu dem Schluß, daß die Nukleotide bei der Zuckersynthese von den meisten Rauh-Stämmen normal zu sein scheinen, was bedeutet, daß bei diesen Mutanten die Lipopolysaccharid-Transferase-Reaktionen gehemmt sind.

W i l k i n s o n und S t o c k e r (133) fanden zusammen mit O s b o r n (82) Mutanten, denen Glykosyl- und Galaktosyl-Transferasen fehlten. Diese Eigenschaften konnten mit radioaktiv markierten Transferasen lokalisiert und nachgewiesen werden (79).

F u k a s a w a und N i k k a i d o (23) unter-

suchten Stämme von *Salmonella enteritidis*, die unfähig waren, Galaktose einzubauen, da die Aktivität von Galaktokinase nicht ausreichte, bzw. keine vorhanden war. Die Funktion der Lipopolysaccharide kann so weit abgegrenzt werden, daß sie nicht lebenswichtig sind (77). Es wird aus amerikanischen Arbeitsgruppen auch von einer Reihe von *Salmonella typhi murium* - Mutanten berichtet, die Enzymdefekte im Proteinaufbau aufweisen.

6. Biosynthese

Die Biosynthese der Zellwandpolysaccharide von Salmonellen und wahrscheinlich auch weiteren Enterobacteriaceen wird über die folgenden prinzipiellen Stufen verlaufen:

Glukose wird zuerst zu UDP-Glukose aktiviert, und ein Polyheptosephosphat in die Zellwand eingebaut. Auf Glukose wird nun aktivierte Galaktose in Form von UDP-Galaktose übertragen, es werden also verschiedene Nukleotidzucker durch Transferase-Systeme auf das Rückgrat übertragen (79, 81). Wenn die weitere Biosynthese auf dieser Stufe blockiert ist, so kommt es zu den typischen Rauh-Formen. Studien, die den Kern (core) betreffen, wurden durch den Gebrauch von Rauh-Mutanten ermöglicht, indem man verschiedene biosynthetische Stufen verfolgte. Die Bestimmung dieser Mutanten basiert sowohl auf dem chemischen Aufbau der Zellwandpolysaccharide Ra, Rb, Rc, Rd, Re (64) und ihrer serologischen Spezifität R I und R II (3, 69). Liegt bei der Biosynthese kein Block vor, so erfolgt die Anlagerung der Seitenketten an den Kern unter Verwendung der Spezifischen Zuckerbausteine, je nach der Enzymausrüstung, Galaktosamin, Mannose, Desoxy- und

Didesoxyhexosen, wobei auch Galaktose und Glukose erneut beteiligt sein können. Hier zeigt sich auch ein weiteres Aufgabengebiet der Forschung in dieser Hinsicht. Es gilt, die erhebliche Vielfalt der Enzymausrüstung bakterieller Spezies und ihre Abhängigkeit vom genetischen Apparat der Zelle vergleichend zu erforschen (132).

Daß die Biosynthese von S-Polysacchariden tatsächlich über R-spezifische Zwischenstufen verläuft, konnte an Partialhydrolysaten von S-Lipopolysacchariden gezeigt werden (131). Es sind Mutanten isoliert worden, in denen bestimmte an der Polysaccharid-Synthese der S-Form beteiligte Enzyme ausgefallen oder blockiert sind, sodaß die Biosynthese auf dieser Stufe abbricht (132). Damit wird auch deutlich, daß für die Frage, ob ein Bakterium pathogene Eigenschaften annimmt oder nicht, einzelne Enzyme der Polysaccharid-biosynthese wesentlich sein können. Die Möglichkeit, solche Enzyme näher zu untersuchen und womöglich durch antagonistische Substanzen zu blockieren, würde zu neuen therapeutischen Maßnahmen führen können. Die betreffenden Bakterien würden nämlich bei der Biosynthese des Zellwandpolysaccharids auf einer Stufe stehen bleiben, die weitgehend der apathogenen Rauh-Form entspräche. N i k k a i d o (nach 132) und andere japanische Forscher haben inzwischen Verlustmutanten von Salmonellen und Coli-Bakterien entdeckt, bei denen der Block der Polysaccharid-Synthese auf noch niedrigerer Stufe eingetreten ist. Bei den sogenannten M-Mutanten von Salmonellen der Gruppen B und D fehlt das Co-Enzym UDP in der Galaktose- 4 Epimerase. Wenn solche Mutanten auf Glukose

gezüchtet werden, so kann das Bakterium nur Glukose in die Zellwand einbauen, da Galaktose aus Glukose nicht gebildet wird. Gibt man jedoch solchen Mutanten zusätzlich Galaktose ins Nährmedium, so können sie direkt Galaktose-1-Phosphat und daraus mit einer Uridyl-Transferase UDP-Galaktose bilden, die auf das Glukose-Polymere übertragen wird. Dann läuft die Synthese bis zum Polysaccharid der S-Form.

Westphal und Mitarbeiter (132) entdeckten bei Coli-Bakterien einen Super-Rauh-Stamm. Dieser Mutanten fehlt das Enzym, welches Glukose-1-Phosphat in UDP-Glukose verwandelt. Da aber Nucleosid-Diphospho-Hexosen die aktiven Vorstufen der Polysaccharid-Synthese sind, kommt es beim Fehlen des Enzyms UDP-Glukose-Phosphorylase zu keinerlei Glukoseeinbau, und damit zum völligen Fehlen eines typischen Zellwandpolysaccharids. Die Zellwand solcher Super-Rauh-Mutanten enthält also nur Glukosamin und Heptose.

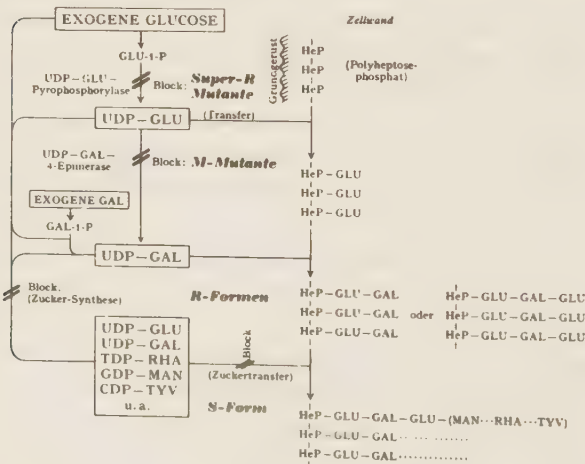


Abb. 6 Schema der Biosynthese von Zellwand-Poly-

sacchariden bei Salmonellen. Modifiziert nach T. F u k a s a w a und H. N i k a i - d o (nach 132).

7. Variationen

Es gibt eine Reihe von Variationen. Im Rahmen dieser Arbeit sind jedoch nur die S-(T)-R-Variationen und die R-S-Variation von Bedeutung. Variationen können spontan auftreten oder künstlich herbeigeführt werden.

S-(T)-R-Variationen.

Bei den S-(T)-R-Variationen tritt ein teilweiser oder völliger Verlust des O-Antigens ein. Morphologisch sind dann unterschiedlich starke Wachstumsveränderungen sichtbar. Sie wurden entdeckt von A r k w r i g h t (1).

S c h l o s s b e r g e r (113) führt reversible (morphologische) und irreversible (antigene, serologische) Veränderungen an. Reversibel sind solche des Phänotyps, die durch äußere Einflüsse entstehen, wie Größe, Form und Enzymgehalt. Irreversibel sind Änderungen des Genotyps, die relativ unabhängig von der Umwelt entstehen. Diese Mutanten sind entweder besonders anpassungsfähig und überwuchern die S-Form, oder sie sind es gerade nicht und verschwinden schnell wieder. Der Übergang in die R-Form tritt relativ häufig beim Aufbewahren der Kultur auf ungeeigneten Nährböden und bei häufiger Überimpfung ein. Die Anwesenheit von Kohlehydraten in den Nährböden begünstigt das Entstehen der R-Formen, ebenso wie die Anwesenheit von Antiseren und Bakteriophagen. Weiterhin ist R-S-Formenwechsel bei übermäßig langem Bebrüten des Bouillonährbo-

dens bei 37°C beobachtet worden (43, 58).
 C a s e l i t z (10) konnte 1949 keine R- oder T-Stämme aus S-Stämmen durch Zugabe von Antiseren erhalten. Er kam damit zu einem anderen Ergebnis als S c h o l t e n s (119), der auf diese Art S-R-Formenwechsel provoziert hatte. Durch genau dosierte Ultraschalleinwirkung konnte C a s e l i t z (11) jedoch später stabile R-Formen erzeugen. B r a n d i s (7) erhielt mit Anti-R-Phagen, die er auf R-Formen einwirken ließ, homologe S-Formen. K r ö g e r (58) hat die besten Ergebnisse durch Alternlassen erzielt. Diese Methode hatte bei M e y e r und G o l d e n b e r g (76) schon Erfolge gezeigt, die noch besser durch Immunserumzusatz oder durch Beigabe von Organstücken wurde. Der morphologische Formenwechsel Glatt-Rauh geht meist mit dem serologischen Wechsel S (O-Antigen) - R (R-Antigen) einher. Dies muß aber nicht so sein (65). So fanden D a v i e s und Mitarbeiter (14) bei *Pasteurella pseudotuberculosis*, daß zwei S-R-Systeme unabhängig voneinander vorhanden sein können. Das eine basiert auf Polysaccharid, das andere auf Protein. Beide können unabhängig vom anderen Glattform bedingen. D a v i e s beschrieb 5 Formen:

- a) Smooth (SS) mit Protein + (S)-Polysaccharid (+ Desoxy-
zucker)
- b) Intermediate (SR) mit Protein + (R)-Polysaccharid (- Desoxy-
zucker)
- c) Intermediate (RS) ohne Protein + (S)-Polysaccharid
- d) Rough (RR) ohne Protein + (R)-Polysaccharid
- e) Rough (Rho) ohne Protein + Restpolysaccharid aus
Hexosamin.

R-S-Variationen

Hierbei erfolgt eine Überführung der R-Mutante in den Glattzustand. Dieser Vorgang kommt fast nie spontan vor und ist auch künstlich nur relativ selten gelungen. Nach S c h m i d t (117) ist die künstliche Umwandlung von der R- zur S-Form durch Züchtung in Gegenwart von abgetöteten S-Keimen oder nur von deren O-Antigen bisher nicht möglich. Auch C a s e l i t z und Mitarbeiter (10) gelang eine Rückverwandlung der R- in S-Stämme nicht. M e y e r und G o l d e n b e r g (76) hatten bei dem Versuch, einen heterologen R-S-Wechsel bei Überimpfung lebender R-Formen des einen Typhus-Typen mit abgetöteten S-Formen des anderen Typus zu erreichen, keinen Erfolg, dagegen gelang mit der gleichen Technik eine Überführung in die homologe S-Form. B r a n d i s (7) überführte R-Stämme von Paratyphus B durch Anti R-Phagen in S-Stämme. Es entstanden Stämme vom Antigentypus Ω , d.h. Formen, die neben R-Antigen noch O-Antigen besitzen. Es gehen dabei die Rezeptoren für den Anti-R-Phagen verloren und neue Rezeptoren für die Anti-O und Typenphagen treten auf. S c h m i d t (117) berichtet von B o i v i n, der den Umschlag von R- in S-Formen beobachtet hat, was auch in der Natur spontan vorkommen können soll und dann epidemiologisch wichtig ist.

Versuche anderer Autoren, in vivo aus R-Formen Glattstämme zu erhalten, scheiterten meist. So konnte weder C a s e l i t z (10) nach oraler Infektion, noch M e y e r und G o l d e n b e r g (76) nach parenteraler Infektion Glattstämme aus ihren infizierten Versuchstieren erhalten. H u m m e l (34) zitiert jedoch B e t t e n c o u r t,

Welcker und Stellmacher, die Glatzstämme nach intraperitonealer und subkutaner Applikation erhalten hatten, und auch Kröger (58) berichtet von einem Fall, in dem er eine glatte Variante nach Infektion mit einer Rau-Variante erhielt. Nach Kröger (58), Casselitz (10) und Hummel (34) ist das jedoch eher auf eine serologisch nicht ganz reine R-Mutante zurückzuführen.

D. Immunisierung

1. Entwicklung

Auf die Arbeiten über die Entwicklung der Immunität und Schutzimpfung soll hier nur kurz eingegangen und auf ausführliche Arbeiten verwiesen werden. So hat Raetzig im Jahre 1952 über 2000 Arbeiten zu diesem Thema gesammelt (87), die heute ergänzt werden durch die Arbeiten von Raetzig (89), Marvik, R (73) und Breuel (9), der sich speziell mit der Sammlung der Arbeiten über orale Immunisierung beschäftigte.

Die lokale Impfung (über die Haut oder Schleimhäute) ist älter als die parenterale (94). Ausführlich beschäftigte sich als erster Paul Ehrlich (19) mit dem Problem der oralen Immunisierung. Mit langsam steigenden Dosen immunisierte er Mäuse erfolgreich gegen die Pflanzengifte Ricin und Abrin (17, 18). Zu gleicher Zeit konnte Metchnikoff (74) nachweisen, daß neben der humoralen Abwehr im immunisierten Tier die Phagocy-

tose eine wichtige Rolle in der Immunreaktion spielt. Seine Schüler B o r d e t und B e s - r e a k a entwickelten die Theorie der lokalen Immunisierung weiter.

Erst nach dem 2. Weltkrieg wurden dann eingehende Versuche von den Arbeitskreisen um R a e t - t i g , R a u s s , M o c h m a n n und R o w - l e y zum Problemkreis der oralen (lokalen) Immunisierung unternommen.

2. Lokale Immunisierung

Unter lokaler Immunisierung versteht man heute im fachlichen Sprachgebrauch, daß das Antigen mit der Haut oder Schleimhaut in Berührung gebracht wird, wobei in der Regel die Oberflächen benutzt werden, die gegenüber dem Erreger primär empfänglich sind, bei der Typhusimmunisierung zum Beispiel die orale Anwendung, um die oberen Luftwege und das Darmepithel mit dem Antigen in Kontakt zu bringen. Bei der parenteralen im Gegensatz zur lokalen Immunisierung wird aber die Haut künstlich umgangen und das Antigen subkutan, intrakutan, intravenös, intramuskulär oder intraperitoneal gegeben. Dem Begriff enteraler lokaler Immunisierung ordnet man die vaginale, - vesikale- und Inhalations- (bronchiale)-Immunisierung zu, und der dermalen die äußere Haut (95).

Gay (nach 89) erreichte eine echte lokale Immunisierung gegen Streptococcus pyogenes und S a n a - r e l l i (nach 89) konnte nach Inhalation von Meningokokken bei Menschen und Tieren ungewöhnlich hohe Agglutinationstiter nachweisen. Das spräche für die Annahme, daß die besten Antikörpertiter dann entstehen, wenn das Antigen mit dem primär em-

pfänglichen Gewebe in Kontakt kommt.

S c h m u d d e (119) konnte durch orale, nasale und rektale Immunisierung mit homologen, hitzeinaktivierten Keimen die Mortalität nach oraler Infektion bei Mäusen signifikant senken. R a u s s und K é t y i (104) erzielten mit oraler gleichwertige Ergebnisse wie mit parenteraler Immunisierung durch virulenzabgeschwächte Lebend- und durch Totimpfstoffe bei oraler Immunisierung mit *Shigella flexneri*.

P i r i n g e r (83) erzielte gute Immunitäts-erfolge durch orale Immunisierung mit virulenzabgeschwächten Lebend- und mit Totimpfstoffen gegen Dyspepsie-coli-Infektion bei Mäusen.

K é t y i (48) erhielt bei passiver oraler Immunisierung von Säuglingsmäusen einen ausgezeichneten Schutz gegen eine sonst immer letal verlaufende Infektion mit *Escherichia coli*. Die Wirksamkeit der oralen Immunisierung war erheblich größer und risikoloser als bei parenteraler Immunisierung.

R a e t t i g (99) erzielte auch durch Immunisierung der trächtigen Muttertiere eine signifikante Immunität in der ersten Lebenswoche bei den dann geworfenen Säuglingsmäusen.

Zur weiteren Absicherung der lokalen Immunisierung sind noch Versuche zur Wertigkeitsprüfung der Impfstoffe nötig. Entsprechende Versuche, z.B. zur Erfassung der Gesetzmäßigkeit der Antikörperbildung nach lokaler Immunisierung, Messung ihrer Titer im Darminhalt, ihr Anstieg im Serum, sind im Gange (60, 104, 118).

3. Die Immunität ist abhängig von der Funktionskraft der Abwehrsysteme, von spezifischen Antikörpern, von einer unspezifischen bakteriziden Wirkung des

Serums, sowie den sessilen Antikörpern und der sich aus diesen Antikörpern ergebenden lokalen Immunität. Die Abwehr des Körpers gegen Erreger und deren Antigene geschieht prinzipiell unter Einfluß zweier Systeme, die häufig gleichzeitig arbeiten und funktionell nicht streng zu trennen sind.

1) dem humoralen

2) dem zellulären System.

Die humorale Immunität ergibt sich aus den im Blut kreisenden Antikörpern (39, 106), Alexinen, Pro-perdinen, Opsoninen und Bakteriotropinen, sowie wahrscheinlich dem Interferon (125). H e y m a n n und J a n d l (27) zeigen im passiven Mäuseschutzversuch (Prüfung der Schutzwirkung von humoralen Antikörpern) eine deutliche Abhängigkeit der Immunsera von ihrem Antikörpergehalt und der Antigenstruktur der Infektionsstämme. So muß z.B. ein Immunserum Vi-Antikörper oder einen der Antigenstruktur des Infektstammes entsprechenden Antikörper enthalten, wenn die Infektion mit einem Vi-Antigen erfolgt (28). Da es aber auch ohne Antikörperbildung eine gute Infektionsimmunität gegen Bakterien und Viruserkrankungen geben kann (60, 124) wenden sich S t i c k l (124) und R a e t t i g (90) gegen die Überbewertung der Antikörper und weisen darauf hin, daß die Antikörperbildung und die entstandene Antikörpermenge nur einen Teil der Immunität repräsentiert. Mindestens ebenso wichtig wie die homologe Antikörper-Anstiegsreaktion ist die breite unspezifische Immunisierung. Viele Spezies gramnegativer Bakterien werden schnell getötet, wenn sie mit frischem normalen menschlichen oder tierischen Serum zusammengebracht werden (106).

R o w l e y vermutet in der bakteriziden Serum-Reaktion die Fähigkeit des Bakteriums, mit irgendeinem Oberflächensubstrat des Organismus zu reagieren. Rauhe und avirulente, morphologisch glatte Stämme sind leichter vom Serum zu töten als die glatten Stämme, von denen sie abgeleitet sind. R o w l e y weist in diesem Zusammenhang auf die im Serum enthaltenen Opsonine, die die Phagozytose des Bakterium beschleunigen, hin (39, 128). Sie bilden sich nach Gabe virulenzabgeschwächter lebender Impfstoffe und haben die Fähigkeit, durch Verbindung mit der Bakterienzelle, die normalerweise nicht angreifbar ist, die Oberfläche so zu verändern, daß die Leukocyten phagocytieren können. Die Gruppe um R o w l e y kommt auf Grund vieler Arbeiten zu der Definition, daß jedes Serum-Protein oder jede Substanz, die mit der Oberfläche eines Partikels so reagiert, daß es besser für die Phagocyten angreifbar ist, Opsonin genannt wird, und betont, daß Opsonin ein funktioneller Begriff ist, und nicht irgendeine bestimmte Klasse von Serum-Proteinen beschreibt (45, 106). In ganz ähnlicher Weise wirken die Alexine, Properdine und Bakteriotropine. Bekapselte Bakterien können nicht von Opsoninen behaftet werden. In diesem Fall treten die Bakteriotropine in Aktion.

Die zelluläre Immunität ist der spezifische Schutz, den das für eine Infektion primär empfängliche Gewebe nach einer Infektion erwirbt. Nach

M e t s c h n i k o f f (74) basierte der Erfolg einer Impfung primär auf der zellulären Reaktion des Körpers, während die humorale Immunität als sekundär und für die Belastbarkeit unwesentlich angesehen wurde. B e s r e d k a (5), der die Ver-

suche weiter ausführte, lehnte sogar eine humorale Reaktion ganz ab.

R a e t t i g und B u s e (98) konnten inzwischen zeigen, daß eine orale Immunisierung auf dem Weg über die Lymphe sekundär die humorale Immunität stimuliert, und daß dann mit entsprechend genauen serologischen Methoden gute Antikörpertiter beobachtet werden können. Nach anschließender homologer Infektion sind die Antikörpertiter dann sogar noch höher und länger nachzuweisen, als nach einer parenteralen Immunisierung und zeigen damit die gute Belastbarkeit der immunkompetenten Zellen. L i e t z und R a e t t i g (60) erhielten durch zehnmalige Gabe von inaktivierten Dyspepsie-coli-Bakterien eine gute Infektionsimmunität, aber keine Antikörperbildung. Die gute und schnelle Wirksamkeit der oralen Impfung läßt sich am ehesten durch Kopro-Antikörper erklären (21, 104). R o w l e y (107) bestätigt Untersuchungen anderer Autoren, die nachwiesen, daß die Immunität bei Mäusen in phagocytierenden Zellen manifestiert ist und unabhängig von humoralen Antikörpern ist. Er bestätigt das Konzept einer Reihe von japanischen Autoren, die die zelluläre Immunität nachwiesen, indem sie unbehandelte Mäuse durch Einspritzen von gewaschenen peritonealen Makrophagen immunisierter Mäuse immunisierten. R o w l e y entdeckte, daß die Immunität, die durch diese Zellen gewonnen wurde, unabhängig von zellgebundenen 19-S-Antikörpern ist, und daß sowohl die Immunzellen (Makrophagen), als auch das Immuneserum bakterizide Aktivität durch das normale Mäuseperitoneum entwickeln. Die Phagocyten tragen zur Immunreaktion bei, indem das Antigen zerstört wird, und eine

spezifische Reizung der Lymphocyten herbeigeführt wird. Die Makrophagen sind dieser Rolle gut angepaßt, da sie in einer ersten Phase der Immunreaktion zunehmen, und in einer späteren Phase sowohl zahlenmäßig, als auch funktionell durch einen Überschuß an 7-S-Antikörpern herabgesetzt werden (108). Es ist die Frage, ob Antigene phänotypische Zellveränderungen hervorbringen, so daß die Zellen verschiedene Antikörper produzieren oder ob Antigene bloß die Zellen auswählen, die Dank ihres Genotypes schon fähig sind, eine bestimmte Zahl von Antikörpern zu bilden. Die Immunität braucht für ihre volle Wirkung adäquate Mengen sowohl von phagocytischen Zellen, als auch richtigen Antikörpern (107, 128).

4. Spezifität

Unter "Spezifität" wird hier eine Immunität gegen das species-spezifische Bakterienantigen verstanden, während "Unspezifität" andere Species mit einschließt (97). Meinungen wie die von R a u s s (nach 58), daß jeder Antigenbestandteil der Impfung nur gegen das homologe Antigen schützt, sind inzwischen-auch durch diese Arbeit- widerlegt. Y o s h i d a (nach 83, 89, 97) veröffentlichte 1909 eine Arbeit über unspezifische Immunität. Er konnte einen Immunisierungserfolg bei Mäusen gegen eine Salmonella typhi murium-Infektion nach Immunisierung mit Salmonella paratyphi B beobachten. Zu entsprechenden Ergebnissen kamen J a n d l (36), S m i t h (121) und R a e t t i g (97), der die Möglichkeit einer unspezifischen Immunität durch orale Infektion mit Salmonella typhi murium von vorher mit Salmonella enteritidis oder kommerziell-

lem TAB-oral immunisierten Mäusen anhand einer deutlich gesenkten Morbidität zeigte. R a e t - t i g (92) und M a r v i k (72) konnten sogar einen spezifischen Schutz durch orale Immunisierung mit inaktivierten Salmonella typhi murium-Bakterien gegen eine Infektion mit Columbia SK-Viren erreichen. R a e t t i g beobachtete in einer anderen Arbeit (87) eine erhebliche unspezifische Immunität bei Soldaten, erworben durch "Dreck und Schmutz" während einer Typhuspandemie 1945/46. J a n d l (37) konnte sogar mit Eiklar Immunität gegen eine orale Salmonella enteritidis-Infektion erreichen. P r e h l (84) berichtet von ausführlichen Untersuchungen über den Schutz gegenüber einer intraperitonealen Dyspepsie-Coli-Infektion, hervorgerufen durch lypophilisierte Bifiduskeime. Diese bifidogene Wirksamkeit hängt von dem Anteil lebender Bakterien ab und ist nicht antigengebunden. P r e h l zitiert Autoren, die ähnliche Befunde bei Typhus, Paratyphus und Ruhr-Bakterien zeigen konnten.

K u r s c h i l g e n (59) konnte bei oraler Immunisierung und intraperitonealer Belastung mit Salmonella typhi murium keinen breiten unspezifischen Impfschutz feststellen, wie ihn R a e t t i g (97) bei oraler Immunisierung und oraler Infektion beobachtet hatte. K u r s c h i l g e n hatte außer der spezifischen Spezies verwandte Salmonellen-Arten aus derselben oder einer benachbarten Gruppe des K a u f f m a n n - W h i t e -Schemas verwendet. Der Impferfolg war allein abhängig von den gemeinsamen O-Antigenen der immunisierenden und infizierenden Keime. Ein geringgradiger unspezifischer Schutz wurde nach Verimpfung von ver-

mehrfach virulenten Salmonellen festgestellt. J a n d l (38) kommt zu dem gleichen Ergebnis wie R a e t t i g , daß durch orale Infektionsbelastung ein erheblich größerer unspezifischer Impfschutz als am Modell der intraperitonealen Infektion nachweisbar ist. Daraus ist zu folgern, daß der unspezifische Schutz, der nach oraler Immunisierung gegen eine heterologe orale Infektion wirksam ist, in der Darmwand zu suchen ist. K u r s c h i l g e n (59) kann J a n d l (38) und L i e t z (60) bestätigen, daß durch eine parenterale Infektion nur die spezifische Immunität getestet wird.

B e s r e d k a (5) ging davon aus, daß durch die orale Immunisierung eine lokale Immunität des Darms zu erzeugen sei. Heute dagegen sieht man den erworbenen Schutz in einer allgemeinen Immunität des Organismus. Das konnten L i e t z und R a e t t i g (60) dadurch nachweisen, daß auch durch intraperitoneale Infektionsbelastung nach einer oralen Immunisierung ein relativ breiter, wenn auch nicht so wirksamer Impfschutz vorhanden ist. Die Bakterienantigene müssen also resorbiert worden sein, und die immunkompetenten Zellen des RES zur Antikörperbildung stimuliert worden sein.

S t i n e b r i n g und Y o u n g e r (125) wiesen im Plasma von mit *Salmonella typhi* murium-Antigen intravenös behandelten Mäusen kurzfristig Interferon nach. R a e t t i g und S t i c k l (124) halten es für möglich, daß darin eine Erklärung für die unspezifische Mortalitätsenkung nach oraler Impfung liegen könnte. R a e t t i g schließt auch aus umfangreichem epidemiologischem Material, daß es durch unspezifisches Training der

Abwehrsysteme zu einer Grundimmunität als unspezifische Immunitätserscheinung komme (87).

5. Resorption

V o l k h e i m e r (134) veröffentlichte 1964 eine zusammenfassende Arbeit über Resorptionsversuche mit Partikeln unterschiedlicher Größe. Eine Stunde nach Verfütterung konnte er vereinzelt die Partikel im Venenblut nachweisen, 2-3 Stunden nach Verfütterung waren bei allen Versuchstieren im Blut und im Chylus Modellkörper nachweisbar, deren Größe im Blut bis 70μ betrug, vereinzelt auch bis 95μ . R a l o v i c h und R a u s s (100) zeigten, daß die Bakterienpenetration durch die Darmwand abhängig von der Keimzahl, unabhängig von Virulenz oder Avirulenz bzw. Pathogenität oder Apathogenität erfolgt. Die Pathogenität ist eine entscheidende Folge ihrer Vermehrungsfähigkeit. Avirulente Stämme persistieren, wobei wahrscheinlich ein Gleichgewicht zwischen dem Rhythmus der Vermehrung und der Abwehrreaktion des Organismus besteht. Apathogene Stämme werden nach wenigen Tagen nicht mehr im Darm oder einzelnen Organen angetroffen, obwohl sie vorher auch dort nachweisbar waren. C h e e d i d (12) konnte mit radioaktiv beladenen Endotoxinen und Antigenen nachweisen, daß R-Endotoxin von avirulenten R-Stämmen sehr schnell eliminiert wird, während unschädliche alkaline R-spezifische Polysaccharide nur langsam ausgeschieden werden.

M e v e s (75) konnte mit hitzeinaktivierten radioaktiv markierten Salmonella typhi murium-Antigenen drei verschiedene Resorptionsgipfel zeigen. Auch S c h l e w i n s k i (112) erhielt nach Ver-

fütterung von Staphylokokkus aureus drei charakteristische Anstiege der Bakteriämie. Das könnten den von R a e t t i g (96) postulierten Kreislauf der Antigene beweisen. Er geht davon aus, daß jedes Antigen im Körper verschiedene Wege, die alle über das strömende Blut führen, gehen kann. Ein Teil des Antigens wird sofort mit Urin und Kot ausgeschieden, und geht damit weitgehend immunisatorisch verloren. Ein zweiter Teil wird gleich in den Zellen der biologischen Abwehr abgefangen und spezifisch verarbeitet. Ein dritter Teil des Antigens wird in den oberen Luftwegen ausgeschieden und auf enteralem Wege erneut aufgenommen. Der so entstehende Kreislauf des Antigens ist unabhängig vom primären Ort der Antigenzufuhr.

E. Orale Immunisierungsversuche

1. Material und Methoden

Als Versuchstiere dienten insgesamt 3150 NMRI-Mäuse (Naval Medical Research. Inst.) aus der Zucht des Robert-Koch-Institutes. Das Gewicht der Tiere lag bei Versuchsbeginn durchschnittlich bei 20 g. Sie wurden zu etwa 30 Tieren in Plastikkäfigen gehalten und bekamen Trockenfutter "Altromin" und Leitungswasser. Die Kontrolltiere lebten unter den gleichen Versuchsbedingungen.

Es wurden Gruppen von je 50 Tieren an 2 x 5 aufeinanderfolgenden Tagen mittels einer Schlundsonde oral immunisiert. Der Impfstoff wurde bei 100°C über 3 Min. inaktiviert und in Dosen von je 0,25 ml pro Maus pro Tag gegeben.

Als Impfstoff dienten ein Glattstamm von *Salmonella typhi murium* und fünf Mutanten.

Tabelle 1

Bezeichnung der Mutanten: Bezeichnung bei Schlecht (11)

1.)	S-Stamm 1135	--
2.)	T _I -Stamm 1168	--
3.)	Ra (R _{II}) -Stamm 1591	his 386
4.)	Ra (R _{II}) -Stamm 1592	his 642
5.)	SR-Stamm 1512	SH 777
6.)	Re -Stamm 1398	SL 1102

Die Keimzahl lag zwischen 1×10^9 und maximal 7×10^9 Keime/ml. Die Kontrolltiere blieben unbehandelt.

Am 10. Tag nach der letzten Immunisierung wurden die Tiere oral infiziert. Als Infektionsmittel diente ein virulenter Stamm von *Salmonella typhi murium*. Nach Abimpfung von Agarplatten wurde eine Öse der Kultur in Vollbouillon gegeben und 6 Stunden bei 37 Grad bebrütet. Dabei wurde die Keimzahl so eingestellt, daß etwa eine LD 50 erzielt wurde.

2. Ergebnisse

Die Wirkung der oralen Immunisierung wurde am Vergleich der Todesfälle gemessen, die bei den immunisierten Mäusen und den Kontrolltieren innerhalb von 24 Tagen nach der Infektion auftraten. Die Differenz der Mortalität der beiden Gruppen zeigte also den Erfolg der Impfung.

Um den immunisierenden Wert der einzelnen Impfstoffe vergleichen zu können, sind die Wirkungsindices nach folgender Formel errechnet worden:

$$WI = \frac{(b-a) \times 100}{b}$$

WI = Wirkungsindex

a = Endmortalität der geimpften Tiere

b = Endmortalität der Kontrolltiere.

Die Tabellen 2 - 8 zeigen das Verhältnis der Mortalität von geimpften zu ungeimpften Tieren nach oraler Immunisierung mit Mutanten von *Salmonella typhi murium*. Anhand der Einzeldaten läßt sich zeigen, wie der Wirkungsindex durch einzelne Extremwerte verändert wird. So ist in Tab. 3, Versuch 443, ein Wirkungsindex von 13,6 und in Tab. 5, Versuch 441, ein Wirkungsindex von 0 gegenüber Werten von 55,6 und 36,4 als Extremwerte zu beobachten. Interessant ist weiterhin, daß in Tab. 8 die Werte des Wirkungsindex außerordentlich großen Schwankungen, von 0 bis 40,8, unterliegen, denn gerade bei der Re-Mutante ist am ehesten eine relativ geringe immunogene Eigenschaft zu erwarten.

Tabelle 2 *Salmonella typhi murium* S-Stamm homolog

Versuchs-Nr.	Geimpfte Mäuse			Nichtgeimpfte Mäuse			Wirkungsindex WI
	n	$\pm$	%	n	$\pm$	%	
440	50	11	22,0	50	30	60,0	63,3
441	50	17	34,0	50	37	74,0	54,1
442	50	12	24,0	50	25	50,0	48,0
443	49	12	24,5	50	22	44,0	44,3
444	49	10	20,4	50	22	44,0	53,8
445	50	9	18,0	50	21	42,0	57,1
446	50	12	24,0	50	27	54,0	55,5
Summe	348	83	23,8	350	184	52,8	54,7

Tabelle 3 Salmonella typhi murium S-Stamm heterolog

Versuchs- Nr.	Geimpfte Mäuse			Nichtgeimpfte Mäuse			Wirkungs- index WI
	n	$\bar{x}$	%	n	$\bar{x}$	%	
440	50	15	30,0	50	30	60,0	50,0
441	50	24	48,0	50	37	74	35,1
442	50	17	34,0	50	25	50	32,0
443	50	19	38,0	50	22	44	13,6
444	50	11	22,0	50	22	44	50,0
445	49	10	20,4	50	21	42	51,3
446	50	12	24,0	50	27	54	55,5
Summe	349	108	31,0	350	184	52,8	40,9

Tabelle 4 S - R Mutante

Versuchs- Nr.	Geimpfte Mäuse			Nichtgeimpfte Mäuse			Wirkungs- index WI
	n	$\bar{x}$	%	n	$\bar{x}$	%	
440	50	22	44,0	50	30	60	26,7
441	50	33	66,0	50	37	74	10,8
442	49	19	38,0	50	25	50	22,4
443	49	17	34,7	50	22	44	21,1
444	50	19	38,0	50	22	44	13,6
445	50	13	26,0	50	21	42	38,1
446	48	18	37,5	50	27	54	30,5
Summe	346	141	40,6	350	184	52,8	22,7

Tabelle 5 R_{II} - Mutante 1591

Versuchs- Nr.	Geimpfte Mäuse			Nichtgeimpfte Mäuse			Wirkungs- index WI
	n	$\overline{t\pm}$	%	n	$\overline{t\pm}$	%	
440	50	24	48,0	50	30	60	20,0
441	50	37	74,0	50	37	74	0
442	50	17	34,0	50	25	50	32,0
443	50	19	38,0	50	22	44	13,6
444	50	14	28,0	50	22	44	36,4
445	49	18	36,7	50	21	42	12,6
446	49	18	36,7	50	27	54	32,0
Summe	348	147	42,2	350	184	52,8	19,6

Tabelle 6 R_{II} - Mutante 1592

Versuchs- Nr.	Geimpfte Mäuse			Nichtgeimpfte Mäuse			Wirkungs- index WI
	n	$\overline{t\pm}$	%	n	$\overline{t\pm}$	%	
440	50	27	54,0	50	30	60	10,0
441	50	24	48,0	50	37	74	35,1
442	50	20	40,0	50	25	50	20,0
443	50	17	34,0	50	22	44	22,2
444	48	14	29,1	50	22	44	33,9
445	50	20	40,0	50	21	42	4,8
446	50	19	38,0	50	27	54	29,6
Summe	348	141	40,5	350	184	52,8	22,9

Tabelle 7 T₁ - Mutante

Versuchs- Nr.	Geimpfte Mäuse			Nichtgeimpfte Mäuse			Wirkungs- index WI
	n	$\pm$	%	n	$\pm$	%	
440	50	25	50,0	50	30	60	16,7
441	50	36	72,0	50	37	74	2,7
442	50	16	32,0	50	25	50	36,0
443	50	16	32,0	50	22	44	27,3
444	50	20	40,0	50	22	44	9,1
445	50	15	30,0	50	21	42	28,5
446	50	19	38,0	50	27	54	29,6
Summe	350	147	42,0	350	184	52,8	20,0

Tabelle 8 R_e - Mutante

Versuchs- Nr.	Geimpfte Mäuse			Nichtgeimpfte Mäuse			Wirkungs- index WI
	n	$\pm$	%	n	$\pm$	%	
440	50	33	66,0	50	30	60	0
441	50	31	62,0	50	37	74	16,2
442	49	22	44,9	50	25	50	10,2
443	49	13	26,5	50	22	44	39,7
444	48	16	33,3	50	22	44	24,3
445	50	18	36,0	50	21	42	6,0
446	50	16	32,0	50	27	54	40,8
Summe	346	149	43,0	350	184	52,8	18,1

Die Summenmortalität für die einzelnen Impfstoffe ist in der Abb. 7 graphisch aufgetragen.



Die prozentuale Sterblichkeit der Summe der Einzelversuche ist in der Tabelle 9 in Spalte 3 eingetragen.

Die Mortalität der geimpften Tiere steht mit einem Durchschnitt von 37,6 % mit einem Minimum bei 23,6 % und einem Maximum bei 43 % der Kontrolltiere mit 52,5 % gegenüber. Die Mortalität der mit R-Stämmen geimpften Tiere lag zwischen 40,5 und 43,0 %. Bei der Gegenüberstellung der immunisierten Tiere gegen die Kontrolltiere ergibt sich bei der Prüfung der Endmortalität nach K o l l e r (54), daß bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 1\%$ der Echtheitsgrad E bis auf die Re-Mutante über 1 liegt, die Immunisierung also signifikant ist. Bei der Re-Mutante liegt bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\Sigma = 5\%$ der Echtheitsgrad über 1, ist also statistisch auffällig.

F. Diskussion

In dieser Arbeit sollte die Möglichkeit untersucht werden, mit Hilfe von R-Stämmen durch orale Immunisierung einen breiten unspezifischen Schutz gegen Salmonella-Infektionen zu erhalten. Einige Grundkriterien oder Voraussetzungen zur Prüfung dieses Versuchsmodells seien hier noch einmal zusammengefaßt:

Die schnelle Resorption (12, 75, 112, 134) sowie die Unschädlichkeit (93) oral verabfolgter nicht vermehrungsfähiger Mikroorganismen sind erwiesen. Die gute Wirksamkeit oraler und damit lokaler Immunisierung ist in einer Reihe von Arbeiten von R a e t t i g und Mitarbeitern gezeigt worden (49, 53, 55, 59, 71, 88, 89, 91, 92, 93). Die immunogenen Eigenschaften von R-Stämmen wurden von K r ö g e r (58) sowie L ü d e r i t z und Mitarbeitern (63, 64, 67, 130) nachgewiesen.

R-Stämme sind bekanntlich Verlustmutanten (3, 64, 113, 132, 150, 164). Den Zellwandlipopolysacchariden von R-Mutanten fehlen die für S-Formen charakteristischen, sich wiederholenden Oligosaccharideinheiten der langen O-spezifischen Lipopolysaccharidketten (64). Bei den hier verwendeten R_{II} = Ra-Stämmen bleiben nur noch die Lipopolysaccharide der Basalstruktur (core) übrig, die bei den Stämmen Rb - Re noch eine fortschreitende Verminderung der Zuckerbausteine und der Kettenlänge erfahren (64, 67, 81). Das Verhältnis von Polysacchariden zu Lipiden innerhalb der Lipopolysaccharide ist also bei R-Mutanten verändert, d.h., die determinanten Gruppen der Olygosaccharide in dem Molekül sind verringert. Ob diese Veränderung eine Wirkung auf die Stimulierung der spezifischen Antikörper oder das unspezifische Abwehrsystem hat, ist bisher nicht systematisch ergründet worden (47).

Die Grundidee dieser Arbeit ist, daß es möglich sein könnte,

mit Hilfe der R-Antigene (core-Antigene), die bei allen Salmonellen gleich oder annähernd gleich sind, (3, 64, 81, 105) jede Salmonella-Infektion durch eine gewisse Basisimmunität, die aus den gegen die core-Antigene gebildeten Antikörpern und aus der Erhöhung der Grundimmunität resultiert, erfassen zu können. Eine weitere noch zu prüfende Möglichkeit zur Erzeugung einer breiten Immunität durch R-Antigene wäre, die Tatsache auszunutzen, daß R-Stämme abgeleitet von sonst virulenten Stämmen avirulent sind. Man könnte sie also lebend anwenden.

Es ist natürlich klar, daß eine homologe Immunisierung weitaus bessere Resultate liefert. So konnte auch in dieser Arbeit gezeigt werden, daß der Schutz gegen eine homologe Infektion mit einem Wirkungsindex von 54,7 (Mortalität 23,8 %) mehr als die Hälfte der Tiere im Gegensatz zu den Kontrollen (52,5 %) überleben ließ. Mit dem Abbau der Spezifität sinkt auch der Immunisierungserfolg, jedoch bleibt er bis auf die Re-Mutante immer noch signifikant, und auch bei dieser nur gering unter der Signifikanzschwelle, und immer noch statistisch auffällig (54).

Bei der heterologen Infektion liegt die Mortalität bei 31 % und bei den Mutanten zwischen 40,5 und 43 %.

Entsprechende Arbeiten anderer Autoren über orale (lokale) Immunisierung mit R-Stämmen liegen bisher nicht vor.

Überlegungen, mit R-Stämmen eine Immunität hervorzurufen, sind schon 1909 von C a s t e l l a n i (nach 58) angestellt worden. Er schlug vor, abgeschwächte avirulente Typhusbakterien, über deren Morphologie und Antigenstruktur allerdings nichts Genaues ausgesagt war, als Impfstoff zu verwenden. A r k w r i g h t (2) beobachtete bei R-Formen die Avirulenz und erhielt keine Immunität. Auch S c h o l t e n s (119) ging davon aus, daß mit R-Formen

eine Immunität nicht zu erzielen sei, weil ihnen die schützenden Antigene fehlten. G r i n e l l (nach 58) stellte fest, daß eine Immunisierung mit R-Formen von Salmonellen im Blut gar keine oder nur eine geringe Vermehrung der bakteriziden Blutstoffe hervorrief. K r ö g e r (56), der die Untersuchung zur Lokalisation bakterieller Wirkungsgruppen unternommen hatte, kommt zu dem Schluß, daß, um eine Immunisierung mit einem R-Antigen erhalten zu können, dieses R-Antigen verfügbar, d.h. offen sein muß. Die relativ schlechten Immunisierungsergebnisse begründete K r ö g e r (57) damit, daß es keine ganz reinen R-Formen seien, und sie durch dem R-Antigen aufliegende O-Antigene in ihrer immunisatorischen Wirkung gehemmt wurden. Er spricht bei diesen Formen von einer mangelnden immunisatorischen Disponibilität des R-Antigens.

D u b o s (16) und S c h l o s s b e r g e r (113) bestätigen, daß Antikörper und Bakteriolyse mit Extrakten aus R-Formen zu erzeugen waren, die in dem Fall von D u b o s sogar eine heterologe Immunität verliehen. M a l t a n a (nach 58) erhielt bei Impfversuchen an Kaninchen eine bessere Schutzwirkung durch Rauh- als durch Glattform-Impfstoffe, was von L e w i n e und D' A l l e s s a n d r o (nach 58) bestätigt wurde.

In letzter Zeit wurden die Möglichkeiten, Immunität durch R-Stämme zu erzeugen, von S m i t h in England und K e n n y und S c h l e c h t aus dem Freiburger Arbeitskreis erforscht. S m i t h und H a l l s (122) gaben 49 Meerschweinchen je 0,5 ml einer Bouillonkultur (5×10^8 lebende Keime / ml) eines R-Stammes von *S. dublin* subkutan. Drei Wochen später wurde, nachdem keine Beeinträchtigung der Tiere festgestellt werden konnte, 22 Tiere mit *S. typhi* murium und 29 mit *S. cholerae* suis oral infiziert. Je 3 Tiere starben an der Infektion, während bei den Kontrolltieren 15,

bzw. 20 die Infektion nicht überlebten. Bei Mäusen konnten sie mit dem gleichen Versuchsmodell eine beachtliche Immunität erreichen, nicht aber bei Kälbern (121). Mäuse, die eine Infektion mit einer lebenden (morphologischen) R-Mutante von *S. cholerae suis*, die eine relativ starke Virulenz zeigte, überlebten, waren immun gegen eine orale Infektion mit einem S-Stamm von *S. cholerae suis* und *S. dublin*. Mäuse, die eine Infektion mit einer (morphologischen) R-Mutante von *S. dublin* überlebten, waren immun gegen eine orale Infektion mit *S. typhimurium* und *S. cholerae suis*, nicht aber gegen eine Infektion mit *Escherichia coli* und *Erysipelothrix rhusiopathiae* (121). Hierzu ist zu bemerken, daß es sich bei den zwei letztgenannten Versuchen um keine serologisch reinen R-Formen gehandelt haben kann, da diese keine Virulenz zeigten (42).

K e n n y und S c h l e c h t (47) prüften die Immunogenität verschiedener R-Mutanten von *S. minnesota* des Chemotyps Ra - Re. Sie zeigten, daß bei intravenöser Gabe von Suspensionen hitzegetöteter *S. minnesota* R-Mutanten, gegeben im Abstand von 5 Tagen, die ersten 3 Injektionen und eine große Antigendosis (2×10^{11} Keime/ml) zu einer signifikanten Erhöhung der Antikörpertiter führten. Es ergab sich weiterhin, daß die Antikörperbildung gegen die verschiedenen Salmonellen R-Mutanten hinsichtlich der Kinetik, des Antikörperstickstoffgehaltes der Seren und des Ansprechens auf Variationen im Immunisierungs-Schema mit der Immunantwort gegenüber *Salmonella* S-Formen vergleichbar ist. Die Höhe der Hämagglutininintiter war hingegen in einigen Fällen niedriger als bei mit S-Formen erhaltenen Immunseren. Die Antikörperantworten waren spezifisch, es wurden zwar einige Kreuzreaktionen beobachtet, aber die homologen Antworten produzierten immer die höchsten Titer. Zwischen Art und Stärke der Antikörperbildung und dem Chemotyp der

untersuchten R-Mutanten ergaben sich keine Korrelationen. Das entspricht auch den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, daß keine eindeutigen Unterschiede zwischen den Immunantworten der z.T. doch recht unterschiedlich aufgebauten S-R-, T₁-, Ra- und Re-Stämmen bestehen. Im Fall der S-R-Mutante wäre hier ein anderes, stärker immunogenes Verhalten zu erwarten gewesen, da S-R-Mutanten ja noch Teile der O-Antigene enthalten. Zur genauen Beurteilung müßte man allerdings die Struktur dieser Mutante exakt aufschlüsseln und prüfen, wieviel O-Antigen-Anteile enthalten sind.

In diesem Zusammenhang ist es von Bedeutung, noch einmal auf die Schwierigkeiten der Beurteilung der Zugehörigkeit der Mutanten hinzuweisen. So haben S c h l e c h t und S c h m i d t (111) anläßlich einer Untersuchung von 14 Rauh-Stämmen bei einer Re- und einer Rd-Mutante auf verschiedenen Nährböden (optisch) glattes Wachstum gefunden, obwohl diese zu den Mutanten gehören, die am meisten "Verlust" an Zuckerbausteinen gehabt haben.

Die Wirksamkeit der oralen Immunisierung mit inaktivierten Mikroorganismen ist für Typhus, Paratyphus, Ruhr und Cholera in Feld-Versuchen seit langem erwiesen (89). Der Wirkungsmechanismus dieser Impfstoffe und der damit verbundenen lokalen Immunität des Darms wird erst seit kürzerer Zeit wissenschaftlich erforscht (104).

H u b e r (32, 33) konnte nach oraler Gabe von Pockenvakzine-Antigen im Darm und in der Haut Gewebeimmunität feststellen. R o w l e y , T u r n e r und J e n k i n (39, 107) zeigten an unbehandelten Mäusen schützende Wirkung gegen eine *S. typhi* Infektion durch zellgebundene 19 S Makrophagen, die sie aus der Peritoneal-Höhle von immunen Mäusen isolierten und beobachteten einen erhöhten Zellmetabolismus, sowie ein Ansteigen des Enzymgehaltes.

R a u s s und K é t y i (104) konnten den erheblich größeren Einfluß der Kopro-Antikörper im Gegensatz zu den Serumantikörpern auf die Immunantwort nach oraler Immunisierung mit Ganzzell-Impfstoffen von *Shigella flexneri* zeigen. Nach L i e t z und R a e t t i g (60) dürften nach der ersten oralen Immunisierung fast nur Kopro-Antikörper entstehen. Bei darauf folgender Infektion sind, wahrscheinlich durch Booster-Wirkung, auch größere Mengen von Serum-Antikörpern nachweisbar. Entscheidend für den Grad des spezifischen Schutzes ist nicht die Höhe des Antikörpertiters im strömenden Blut zur Zeit der Infektion, sondern die Bereitschaft der immunkompetenten Zellen, im Bedarfsfall schnell Antikörper zu bilden. R a e t t i g (95) und Mitarbeiter zeigten, daß es möglich ist, Immunglobuline, die nur in den Sekreten der Schleimhäute und des Magen-Darmsaftes, also den Orten der lokalen Immunität vorkommen, nachzuweisen. Es werden darin Serumbglobuline der Klasse A (IgA) vermutet. L e v a n o n und R o s s e t t i n i (nach 95) immunisierten Mäuse mit dieser (IgA-) Fraktion und schützten sie gegen eine orale Infektion. W e r n e r (129) konnte in der Lamina propria den alleinigen Ausgangsort der Gewebssimmunität des Darmes aufzeigen.

W e r n e r , L e f é v r e , R a e t t i g (129a) beobachteten mit dem modifizierten Jerne-Test einen zweigipfligen Anstieg der Produktion IgM-bildender Zellen nach Antigengabe, am siebenten und am achtzehnten Tag. Sie zeigten, daß der zweite Gipfel nur durch Antigenstimulation aus dem Darmlumen zu erzielen war, hervorgerufen durch das Immunsystem der mucösen Membran des Darmes, während der erste Gipfel dem gesamten Immunsystem zuzuschreiben war.

G. Zusammenfassung

Impfstoffe aus sechs hitzeinaktivierten Stämmen von *S. typhi murium* wurden im Mäuseschutzversuch auf ihre Immunogenität getestet. An insgesamt 3150 Mäusen konnte gezeigt werden, daß nach 10-tägiger oraler Immunisierung mit einem Glattstamm und anschließender oraler Infektion ein sehr guter homologer und ein guter heterologer Schutz bestand. Die Impfung mit fünf R-Stämmen schützte die Tiere gegen eine Infektion mit einem Glattstamm bis auf eine Mutante mehr als halb so gut. Die Wirkungsindices lagen bis auf die eine Mutante im Signifikanzbereich.

Da alle Salmonellen die gleiche oder annähernd gleiche Basalstruktur haben, liegen die Vorteile dieser oralen Immunisierung mit R-Stämmen in einer breiten unspezifischen Schutzwirkung.

Es wird ausführlich über Aufbau von O-, T- und R-Antigenen, sowie Differenzierung, Chemie und Variationen berichtet. Die Ergebnisse werden mit Arbeiten über parenterale Immunisierung mit R-Stämmen diskutiert.

H. Literatur

- 1) ARKWRIGHT, J.A. Variation in bacteria in relation to agglutination by salts and by spezific sera.
J. of Path. 23 358 (20)
- 2) ARKWRIGHT, J.A. The effect of growing smooth and
PITT, H.M. rough cultures in serum.
J. of Path. 32 229 (29)
- 3) BECKMANN, I. Zur Immunchemie der somatischen
LÜDERITZ, O. Antigene von Enterobacteriaceen
WESTPHAL, O. IX. Serologische Typisierung von
S-R-Antigenen
Biochem. Z. 339 402 (69)
- 4) BECKMANN, I. Rough mutants of salmonella.
SUBBAIAH, T.U. II. Serological and chemical
STOCKER, B.A.D. investigations.
Nature 201, 1299-1301 (64)
- 5) BESREDKA, A. Die lokale Immunisierung.
Leipzig J.A. Barth 1926
- 6) BIRNSCHEIN, E. Die Schutzwirkung von oral gegebenen
Bakterienfraktionen im Tierversuch.
I. Diss. FU Bln. (71)
- 7) BRANDIS, H. Untersuchungen über Bacteriophagen,
die auf rauhe Bakterienstämme wirken.
Zbl. Bakt. I. Orig. 165
305 - 312 (56)

- 8) BRANDIS, H. Untersuchungen über die Wirkung von R-spezifischen Bakteriophagen auf R-Form von Salmonella paratyphi B.
Zbl. Bakt. I. Orig. 199
185 - 192 (65)
- 9) BREUEL, H.-P. Lokale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. Literaturdokumentation.
Reihe 4 G. Fischer Stuttgart 1969
- 10) CASELITZ, F.H. Der S-R-Formenwechsel bei Salmonella Bakterien ohne Vi-Antigen.
Z.Hyg. 130 223 - 234 (49)
- 11) CASELITZ, F.H. Ultraschallwirkung bei Bakterien der Salmonella-Gruppe.
Z.Hyg. 133 113 - 121 (51)
- 12) CHEDID, L. Lokalization and Fate of Cr⁵¹
PARANT, F. labeled somatic antigens of
PARANT, M. smooth and rough Salmonellae.
BOYER, F. Ann. NY. Acad. Sci. 133
Art 2 712 (66)
- 13) COLLINS, F.M. Recall of Immunity in Mice vaccinated with Salmonella enteritidis or Salmonella typhi murium.
J. Bact. 95 2014 (68)
- 14) DAVIES, D.A.L. The smooth and Rough Somatic Antigens of Pasteurella pseudotuberculosis.
J. gen. Mikrobiol. 18 118 (58)

- 15) DRÖGE, W. Biochemical Studies of Lipopoly-
RUSCHMANN, E. saccharids of S.R.-Mutants.
LÜDERITZ, O. 4 Phosphate Groups linked to
WESTPHAL, O. Heptose Units and their Absence
 in somatic R-Lipopolysaccharids
 Europ. J. Biochem. 4, 134 (68)
- 16) DUBOS The Bacterial Cell.
 Cambridge Massachusetts USA (47)
- 17) EHRLICH, P. Experimentelle Untersuchungen
 über die Immunität. Über Ricin.
 Dtsch. med. Wschr. 32 976 (1891)
- 18) EHRLICH, P. Über Abrin.
 Dtsch. med. Wschr. 44, 1218 (1891)
- 19) EHRLICH, P. Historisches zur Frage der Immu-
 nität "per os".
 Wien. klin. Wschr. 18 652 (1908)
- 20) FELIX, A. The pathogenic and immunogetic
PITT, H.M. actions of Salmonella typhi in
 relations to its antigenic con-
 stituents.
 J. of Hyg. 49 92 (51)
- 21) FRETER, R. Detection of Coproantibody and
 its formation after parenteral
 and oral immunization of human
 volunteers.
 J. infect. Dis. 111
 37 (62)

- 22) FUKASAWA, T. Galaktose sensitive Mutants
NIKAIDO, H. of Salmonella.
Nature 184 1168 (59)
- 23) FUKASAWA, T. Galaktose sensitive Mutants of
NIKAIDO, H. Salmonella.
II. Bacteriolysis induced by
galactose. Biochem. et Biophys.
Acta 48, 470 (61)
- 24) GALANOS, C. A new method for the Extraction
LÜDERITZ, O. of R- Lipopolysaccharids.
WESTPHAL, O. Europ. J. Biochem. 9, 245 (69)
- 25) GRABEN, N. Zur oralen Immunisierung von Mäu-
sen mit inaktivierten Salmonella
typhi murium Bakterien in Form
einer Wasser-Öl-Emulsion aus kom-
plettem und inkomplettem Freund'
schen Adjuvans.
I. Diss. Bln. (71)
- 26) HERRMANN, R. Immunologische Aktivität von RNS
und DNS aus gramnegativen Bakte-
rien.
Zbl. Bakt. I. Orig. 208 152 (68)
- 27) HEYMANN, G. Experimentelle Untersuchungen zur
JANDL, G. Wertbemessung von Typhusimpfstof-
fen.
I. Mitt. Die Schutzwirkung von humo-
ralen Antikörpern verschiedener Spe-
zifität bei der weißen Maus.
Z. Imm. Forsch. 119 279 (60)

- 28) HEYMANN, G. s.o. II, Mitt. Die Wertbemessung nicht extrahierter und nicht absorbiertes Typhusimpfstoffe nach dem allgemeinen Standardprinzip. Z. Imm. Forsch. 120 376 (60)
- 29) HOBSON, D. The Behaviour of a mutant Strain of *Salmonella typhi murium* in experimental Mouse typhoid. J. Hyg. 55 322 (57)
- 30) HOLME, T. Chemical Composition of cell wall
LINDBERG, A.A. Polysaccharide of Rough Mutants
GAREGG, P. J. of *Salmonella typhi murium*.
ONN, T. J. gen. Microbiol. 52 45 (68)
- 31) HOLME, T. Immunochemical Studies on cell
LINDBERG, A.A. wall Polysaccharides of Rough
Mutants of *Salmonella typhi murium*.
J. gen. Mikrobiol. 52 55 (68)
- 32) HUBER, H. Tierexperimentelle Untersuchungen
über die orale Immunisierung mit
Vaccinia-Virus.
I. Diss. München (69)
- 33) HUBER, H. Kann die Pockenimpfung verbessert
STICKL, H. werden ? Untersuchungen zur oralen
HOCHSTEIN- Pockenimpfung.
MINTZEL, V. Monatsschr. f. Kinderheilkunde
118 - 6 381 - 382 (70)

- 34) HUMMEL, P. Untersuchungen an Rauh-Formen von
 Salmonella-Bakterien.
 I. Diss. FU Bln. 1963
- 35) ILLES, J. Zur aktiven Schutzimpfung gegen
 die Salmonellosen.
 Zbl. Bakt. I. Orig. 202 364 (67)
- 36) JANDL, G. Experimentelle Untersuchungen zum
 Mechanismus der oralen Typhusim-
 munisierung.
 Z. Hyg. Infekt. Kr. 151 34 (65)
- 37) JANDL, G. Experimentelle Untersuchungen zum
 Mechanismus der oralen Typhusim-
 munisierung. II. Mitt.
 Z. med. Mikrob. Immunol. 152
 211 - 215 (65)
- 38) JANDL, G. Probleme des Immunmechanismus bei
 der oralen Typhusimmunisierung
 Zbl. Bact. I. Orig. 198 170-181 (65)
- 39) JENKIN, C.R. Basis for immunity to typhoid in
 mice and the question of cellular
 immunity.
 Bact. Rev. 27 391 (63)
- 40) JENKIN, C.R. Partial purification of the
 "protective" antigen of Salmonella
 typhi murium and its distribution
 amongst various strains of Bacteria.
 Austr. J. Exp. Med. Sci. 43, 65 (65)

- 41) KAUFFMANN, F. A new Antigen of Salmonella paratyphi B and Salmonella typhimurium.
Acta path. mikrobiol. scand. 39
299 - 304 (56)
- 42) KAUFFMANN, F. Zur Immunchemie der O-Antigene der
LÜDERITZ, O. Enterobakterien.
STIERLEIN, H. I. Analyse der Zuckerbausteine von
WESTPHAL, O. Salmonella O-Antigenen.
Zbl. Bakt. I. Orig. 178 442 - 458 (60)
- 43) KAUFFMANN, F. Die Spezies der Salmonella Bakterien.
Elnar Munksgaard Verlag Kopenhagen (61)
- 44) KAUFFMANN, F. Enterobacteriaceae
Elnar Munksgaard Verlag Kopenhagen (54)
- 45) KAUFFMANN, F. Zur Immunchemie der O-Antigene von
KRÜGER, L. Enterobakterien.
LÜDERITZ, O. VI. Vergleich der Zuckerbausteine von
WESTPHAL, O. Polysacchariden an Salmonella S- und
R-Formen.
Zbl. Bakt. I. Orig. 182 57-66 (61)
- 46) KAUFFMANN, F. 40 Jahre Kauffmann-White Schema.
Zbl. Bakt. I. B Ref. 488 (72)
- 46a) KAUFFMANN, F. Proteus X-Stämme (in Dänemark)
PERCH, H. Acta path. microbiol. Scand. 24
135 (47)

- 53) KOLB, H.J. Erfolg der oralen Impfung mit Zellwand- und Protoplasma-Fraktion aus *Salmonella typhi* murium im Mäuseschutzversuch.
I. Diss. FU Berlin (71)
- 54) KOLLER, S. Neue graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen.
Dr. Steinkopff-Verlag Darmstadt (69)
- 55) KORDES, I. Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen.
KORDES, B. 12. Mitt.: Immunogenität verschiedener inaktivierter *Salmonella typhi* murium-Vollantigene im Mäuseschutztest.
PICHL, H. Zbl. Bakt. I. Orig. 217 242-253 (71)
GANZE, B.
RAETIG, H.
- 56) KRÖGER, E. Experimentelle Untersuchungen zum morphologischen S/R und antigenen O/o Formenwechsel gramnegativer Darmbakterien.
Z. Naturforschg. 8 b 133-141 (53)
- 57) KRÖGER, E. Zum sogenannten R.Antigen der gramnegativen Darmbakterien.
Z. Immunforschg. 10 414 - 425 (53)
- 58) KRÖGER, E. VII. Die Variationen S/R und O/o insbesondere bei gramnegativen Darmbakterien.
Zur Variabilität, Differenzierung, Chemie, Toxikologie und Immunologie der Formtypen. Erg. Hyg. 475-590 (55)

- 59) KURSCHILGEN, E.M. Vergleichende Tierversuche zur oralen Impfung gegen menschenpathogene, Enteritis-erregende Salmonellen.
I. Diss. FU Berlin (69)
- 60) LIETZ, B.
RAETTIG, H. Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen
V. Tierversuche zur Schutzimpfung gegen Dyspepsie coli Infektionen.
Zbl. Bakt. I. Orig. 204 543-554 (67)
- 61) LINDBERG, A.A.
HOLME, T. Immunochemical studies on cell-wall polysaccharide of rough mutants of *Salmonella typhi* murium.
J. gen. Mikrobiol. 52 55 (68)
- 62) LINGELSHEIM, V. Zur Frage der Variationen der Typhusbacillen und verwandter Gruppen.
Zbl. Bakt. I. Orig. 68 577-582 (13)
- 63) LÜDERITZ, O.
WESTPHAL, O. Über die somatischen Antigene von *Salmonella* S- und R-Formen. Immunchemie, O. Westphal, Springer Verlag Berlin (66)
- 64) LÜDERITZ, O.
STAUB, A.M.
WESTPHAL, O. Immunochemistry of O- and R-Antigen of *Salmonella* and Related Enterobacteriaceae.
Bact. Rev. 30 192 - 255 (66)

- 65) LÜDERITZ, O. Zur Immunchemie der O-Antigene
KAUFFMANN, F. von Enterobacteriaceen.
STIERLEIN, F. II. Vergleich der Zuckerbausteine
WESTPHAL, O. von Salmonella S-R-T-Formen.
Zbl. Bakt. I. Orig. 179 180-186 (60)
- 66) LÜDERITZ, O. Biochemical Studies of the Smooth-
RISSE, H.J. Rough Mutation in Salmonella
SCHULTE-HOLTHAUSEN minnesota.
H. J. Bact. 89 343 (65)
STROMINGER, J.L.
SUTHERLAND, I.W.
WESTPHAL, O.
- 67) LÜDERITZ, O. Structural relationship of Salmo-
GALANOS, C. nella O and R antigens.
RISSE, H.J. Ann. N.Y. Acad. Sci. 133
RUSCHMANN, E. Art. 2 349 (66)
SCHLECHT, S.
SCHLOSSHARDT, J.
SCHMIDT, G.
SCHULTE-HOLTHAUSEN,
H.
WHEAT, R.
WESTPHAL, O.
- 68) LÜDERITZ, O. Preparation and immunological pro-
WESTPHAL, O. perties of an artificial Antigen
STAUB, A.M. with Colitose (Decxy L-Fucose) as
LE MINOR, L. the determinial group.
Nature 186, 556 (60)

- 69) LÜDERITZ, O.
BECKMANN, I.
WESTPHAL, O. Zur Immunchemie der somatischen
Antigene von Enterobacteriaceen.
X. R-Spez. Strukturen in Salmo-
nella-O-Antigenen.
Biochem. Z. 339 416 (64)
- 70) MAALØE, O. Pathogenic-apathogenic transforma-
tion of Salmonella typhi murium.
Acta path. Mikrobiol. Scand. 25
414 (48)
- 71) MARQUARDSSEN, A. Über die Wirkung von Kombinations-
impfstoffen aus Enterobacteriaceen
am Modell der oralen Immunisierung
der weißen Maus.
I. Diss. Berlin (70)
- 72) MARWIK, G.
SCHMUDDE, R.
NEUMANN-
SCHÖNWETTER, B.
RAETTIG, H. Orale Immunisierung mit nicht ver-
mehrungsfähigen Mikroorganismen oder
ihren Antigenen.
VIII. Mitt.: Vergleichende Tierver-
suche zur Inhalationsimpfung und zur
nasalen, oralen und rectalen Schutz-
impfung.
Zbl. Bakt. I. Orig. 208 26-37 (68)
- 73) MARWIK, R. Typhusimmunität und Schutzimpfung,
eine Literaturübersicht von 1952 -
1967.
Zbl. Bakt. I. Orig. Ref. 214
807 - 922 (68)
- 74) METSCHNIKOFF, F. Studies sur l'immunité.
(4^{ième} memoire) zit. nach Marquardsen
Nr. 71.

- 75) MEVES, M. Aufnahme und Verteilung von radio-
markierten Antigenen von Salmonella
typhi murium in der Maus bei oraler,
rectaler und subcutaner Anwendung.
I. Diss. Berlin FU (66)
- 76) MEYER, K. Umwandlungsversuche an pathologi-
GOLDENBERG, B. schen Darmbakterien.
I. Die Rückbildung von R- in S-
Formen.
Z. Immunforsch. 80 121 - 134 (33)
- 77) NIKAIDO, H. Rough mutants of Salmonella.
NIKAIDO, K. III. Encymatic Synthesis of Nucleo-
SUBBAIAH, T.V. tide Sugar Compounds.
STOCKER, B.A.D. Nature 201 1301 - 1302 (64)
- 78) NIKAIDO, H. Galactose sensitive mutants of
Salmonella.
I. Metabolism of Galactose.
Biochem. et Biophys. Acta 48
460 - 470 (61)
- 79) OSBORN, M.J. Biosynthesis of Bacterial Lipopoly-
ROSEN, S.M. saccharide.
ROTHFIELD, L. I Enzymatic Incorporation of Galac-
ZELEZNIK, L.D. tose in a Mutant strain of Salmonel-
la.
Proc. nat. acad. 48 1831 (62)
- 80) OSBORN, M.J. Lipopolysaccharide of the gramnega-
ROSEN, S.M. tive Cell Wall.
ROTHFIELD, L. Biosynthesis of a complex hetero-

- 80) ZELEZNIK, L.D. polysaccharide occurs by succession
HORECKER, B.L. addition of specific sugar residues.
Science 145 783 (64)
- 81) OSBORN, M.J. Biosynthesis and Structure of the
ROSEN, S.M. Core Region of the Lipopolysaccha-
ROTHFIELD, L. rids in Salmonella typhi murium.
ZELEZNIK, L.D. Ann. N.Y. acad. Sci. 133
HORECKER, B.L. 375 (66)
- 82) OSBORN, M.J. Biochemical Characterization of
Mutants of Salmonella typhi murium
lacking Glucosyl or Galactosyl Lipopolysaccharid Transferases.
Nature 217 957 (68)
- 83) PIRINGER, W.A. Orale Immunisierung weißer Mäuse
durch Dyspepsie coli.
Zbl. Bakt. I. Orig. 196 463 (65)
- 84) PREHL, H. Tierexperimentelle Prüfung des Prä-
parates Omniflora auf seine unspe-
zifische Wirksamkeit gegen intrape-
ritoneale Infektion der Maus mit
Dyspepsie-Colibakterien.
I. Diss. Berlin FU (71)
- 85) PRIGGE, R. Experimentelle Untersuchungen über
KIKSCH, L. die giftigen Antigene des Ruhrba-
zillus Shiga-Kruse.
Z. Hyg. 123 417 - 437 (42)
- 86) VON PRITTWITZ, J. Untersuchungen über die Struktur
GAFFRON von S- und R-Formen bei gramnega-
tiven Darmbakterien mit dem Phasen-
kontrastmikroskop.
Arch. Hyg. 218 - 225 (52)

- 87) RAETTIG, H. Typhusimmunität und Schutzimpfung.
Verlag Gustav Fischer Jena (52)
- 88) RAETTIG, H. Möglichkeiten der oralen Immunisation mit inaktivierten Mikroorganismen.
Boll. Ist. Sier. Milan 47
321 - 328 (60)
- 89) RAETTIG, H. Die lokale Immunisierung mit inaktiven Antigenen gegen bakterielle Darminfektionen
Zbl. Bakt. I Ref. 183 1 (62)
- 90) RAETTIG, H. Die aktive Immunisierung gestern, heute, morgen.
Wien. klin. Wschr. 113, 366 (63)
- 91) RAETTIG, H. Die Wirksamkeit der Oralimmunisierung gegen Typhus und Paratyphus.
D. gelben Hefte d. Behring-Werke
Nr. 8 379 (64)
- 92) RAETTIG, H. neue Modellversuche zur Infektionsabwehr des Darmes.
Zbl. Bakt. Orig. 1 198 206-211 (65)
- 92) RAETTIG, H. Die Immunprophylaxe der bakteriellen Ruhr. Bundesgesundheitsblatt 15
229 (67)
- 93) RAETTIG, H. Die orale Impfung mit inaktivierten Mikroorganismen. Zehn Jahre Forschungsarbeit im Robert Koch Institut.
Bundesgesundheitsblatt 11 141-147 (71)

- 94) RAETTIG, H. Aktuelle Erfolge der oralen Immunisierung.
Münch. Med. Wschr. 17 671-677 (71)
- 95) RAETTIG, H. Lokale Immunisierung bei Erkrankungen durch Enterobakteriaceen.
V. Internat. Kongreß f. Infektionskrankheiten Wien (70)
- 96) RAETTIG, H. Neues zur Wirkungsweise der oralen Immunisation.
Wien. med. Wschr. 115 33 (65)
- 97) RAETTIG, H. Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen.
VI. Experimente zur unspezifischen Schutzimpfung der Maus gegen eine Enteritis Infektion.
Zbl. Bakt. Orig. I 197 368 (65)
- 98) RAETTIG, H. s. Nr. 97
BUSE, A. V. Serumantikörper der Maus nach spezifischer Impfung gegen Salmonella Enteritis.
Zbl. Bakt. Orig. I 204
221 - 231 (67)
- 99) RAETTIG, H. s. Nr. 97
GANZE, B. 14. Mitt.: Aktive und passive Immunisierbarkeit von Babymäusen gegenüber einer Salmonella typhi murium Infektion.
Zbl. Bakt. Orig. I A 218
310 - 319 (71)

- 100) RALOVICH, B. Das Schicksal der Maus-aviru-
RAUSS, K. lenter Salmonellen bei oraler
Verabreichung.
Zbl. Bakt. Orig. I
- 101) RALOVICH, B. Beitrag zur Messung der Virulenz
von Salmonella-Stämmen.
Zbl. Bakt. Orig. I 209 25 (68)
- 102) RAUSS, K. Ein neuer Salmonellatypus.
Z. Immunforsch. 97 281-365 (39)
- 103) RAUSS, K. Beiträge zur Immunchemie der soma-
KONTROHR, T. tischen Antigene der 1. und 2.
VERTENYI, A. Phase von Shigella sonnei.
KETYI, I. Biochem. Z. 336 126 (62)
- 104) RAUSS, K. Serum- and Copro-antibodies in
KETYI, I. Mice, immunized perorally with
Shigella flexneri.
Z. Immunforsch. 127 37 (64)
- 105) RISSE, H.J. Eine neue Gruppe von Salmonella
DRÖGE, W. R-Mutanten.
RUSCHMANN, E. Serologische und biochemische Ana-
LÜDERITZ, O. lyse des Heptosekerns von Lipopoly-
WESTPHAL, O. sacchariden aus Salmonella minnesota
und S. ruiuru-Mutanten.
Europ. J. Biochem. 1 216, (67)
- 106) ROWLEY, D. Rapidly induced Changes in the Level
of non spezific Immunity in Labora-
tory animals.
Brit. J. exp. Path. 37 223 (56)

- 107) ROWLEY, D. The Basis for Immunity to mouse
 TURNER, K.J. typhoid.
 JENKIN, C.R. III Cell bound antibody
 Austr. J. exp. Biol. Med.
 Sci. 42 237 (64)
- 108) ROWLEY, D. Phagocytosis and Immunity
 The central Role of Phagocytosis
 in Immune Reaktionen, Experientia 22
 1 (66)
- 109) SCHLECHT, S. Über die Herstellung von Antiseren
 WESTPHAL, O. gegen die somatischen O-Antigene
 von Salmonellen.
 II. Untersuchungen über Hämaggluti-
 nintiter.
 Zbl. Bakt. I. Orig. 205 487-501 (67)
- 110) SCHLECHT, S. Möglichkeiten zur Differenzierung
 SCHMIDT, G. von Salmonella-R-Formen mittels
 Antibiotica und antibakterieller
 Farbstoffe.
 Zbl. Bakt. Orig. I. 212 505-511 (69)
- 111) SCHLECHT, S. Untersuchungen zur Typisierung von
 SCHMIDT, G. Salmonella R-Form.
 VI. Untersuchungen an Salmonella typhi
 murium Mutanten.
 Erscheint im Zbl. Bakt. I A
 219 480 - 493 (72)
- 112) SCHLEWINSKY, E. Orale Immunisierung mit nicht ver-
 GRABEN, N. mehrungsfähigen Mikroorganismen
 FUNK, J. und ihren Antigenen.

- 112) SAHM, E.
RAETTIG, H. 13. Mitt. Resorption und Sekretion
von Mikroorganismen im Tierversuch.
Zbl. Bakt. Orig. I A 218 93-104 (71)
- 113) SCHLOSSBERGER, H. in Kolle-Hetsch.: Experimentelle
Bakteriologie und Infektionskrank-
heiten.
1. Auflg. Kap. I Verlag Urban-
Schwarzenberg (52)
- 114) SCHLOSSHARDT, J. Untersuchungen über die Entstehung
von T-Antigenen im S-R-Formwechsel
bei Salmonellen
Zbl. Bakt. Orig. I 177 176 (60)
- 115) SCHLOSSHARDT, J. Untersuchungen über die Entstehung
von Mutagenen im Zellstoffwechsel
und ihre Rolle im S-R-Formenwechsel
bei Salmonellen.
Zbl. Bakt. Orig. I 192 54 (64)
- 116) SCHMIDT, G.
LÜDERITZ, O. Untersuchungen zur Typisierung von
S-R-Formen.
2. Mitt. Typisierung von Salmonell
minnesota Mutanten durch Phagen.
Zbl. Bakt. Orig. I 210
381 - 387 (69)
- 117) SCHMIDT, H. Fortschritte der Serologie.
Verlag Dr. Steinkopff 2. Auflg.
Darmstadt 1955

- 118) SCHMUDDE, R. Vergleichende orale, nasale und rectale Impfung von Mäusen mit inaktivem *Salmonella typhi murium* Antigen mit und ohne Dimethylsulfoxid. Zugabe.
I. Diss. FU Berlin (68)
- 119) SCHOLTENS, R. Der Glatt-Rauh-Formenwechsel des *Bacterium typhi*.
Zbl. Bakt. I. Orig. 139 467 (37)
- 120) SEDLAK, I. Enterobakterien-Infektion
RISCHE, H. VEB Georg Thieme Leipzig (68)
- 121) SMITH, H.W. The Immunisation of mice, calves and pigs against *Salmonella dublin* and *Salmonella cholerae suis* infections.
J. Hyg. Camb. 63 117
- 122) SMITH, H.W. The immunity produced by a *Salmonella dublin* variant against *Salmonella typhi murium* and *Salmonella cholerae suis* Infection in Guinea-pigs.
HALLS, S. J. Hyg. 64 357 - 359 (66)
- 123) STAUB, A.M. Étude Immunochemique sur les *Salmonellae*.
TINELLI, R. V. Rôle de quelques Sucres, et en Particulier des 3-6 Didesoxyhexoses dans la Spécificité des Antigènes du Tableau de Kauffmann-White.
LÜDERITZ, O.
WESTPHAL, O.

- 124) STICKL, H. Das Impfprogramm bei Viruserkrankungen.
Monatskurve f.d. ärztl. Fortbildg. 8
292 - 296 (71)
- 125) STINEBRING, W.R. Patterns of Interferon Appearance
YOUNGENER, J.S. in Mice injected with Bacteria or
Bacterial Endotoxin.
Nature 204 712 (64)
- 126) STOCKER, B.A.D. Genetic aspects of Biosynthesis and
WILKINSON, R.G. structure of Salmonella somatic
MÄKELÄ, P.H. Polysaccharides.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 133 334 (66)
- 127) SUBBAIAH, T.V. Rough mutants of Salmonella typhi
STOCKER, B.A.D. murium.
I. Genetics.
Nature 201 1298-1299 (64)
- 128) TURNER, K.J. The basis for immunity to mouse
JENKIN, C.R. typhoid.
ROWLEY, D. 2. Antibody formation during the
carrier state.
Aus. J. exp. Biol. 42 229 (64)
- 129) WERNER, H.J. Nachweis immunkompetenter Zellen im
Darm und lymphatischen Organen der
Maus nach oraler Immunisation.
I. Diss. FU Berlin (71)
- 129a) WERNER, H.J. Biphasic Occurrence of IgM-forming
LEFEVRE, H. cells in the intestine after oral
RAETTIG, H. immunization.
Nature 232 119 - 120 (71)

- 130) WESTPHAL, O. Die Struktur der Antigene und das
Wesen der immunologischen Spezi-
fität.
Naturwiss. 46 50 (59)
- 131) WESTPHAL, O. Chemie bakterieller O-Antigene
LÜDERITZ, O. Pathol. et Mikrobiol. 24 870 (61)
- 132) WESTPHAL, O. Die biologische Bedeutung der che-
mischen Feinstruktur bakterieller
Zellgrenzflächen.
Naturwissenschaften 50 413 (63)
- 133) WILKINSON, R.G. Biochemical Characterization of
STOCKER, B.A.D. Mutants of Salmonella typhi murium,
lacking Glucosyl or Galactosyl
Lipopolysaccharid Transferase.
Nature 217, 955 (68)
- 134) VOLKHEIMER, G. Durchlässigkeit der Darmschleim-
haut für großkorpuskuläre Elemente
(Herbst-Effekt).
Z. Gastroent. 2 57 (64)
- 135) YUGOSLAV TYPHOID Field and laboratory studies with
COMMISSION typhoid vaccines.
Bull. Wld. Hlth. Org. 16 897 (57)

Herrn Professor Dr. Raettig danke ich
für die Überlassung des Themas und die
freundliche Unterstützung während der
Arbeit.

Herrn Professor Dr. Schlecht danke ich
für die Bereitstellung der Rohstämme
von *S. typhi murium* und Fräulein Ja-
schinski für die technische Mitarbeit.

LEBENS LAUF

Am 24. Januar 1945 wurde ich, Rainer Bartelheimer, als Sohn des Prof. Dr. med. Heinrich Bartelheimer und seiner Frau Dr. med. Irene Bartelheimer, geb. Liebmann, in Greifswald geboren.

Nach sechs Grundschuljahren besuchte ich das Ernst-Moritz-Arndt-Gymnasium in Berlin von 1958 bis 1962, danach das Staatliche Christianeum Hamburg, wo ich 1965 die Reifeprüfung ablegte.

Nach einem Wartesemester in Heidelberg, wurde ich zum Wintersemester 65 in Berlin zugelassen. Hier legte ich im Winter 1966 das Vorphysikum und im Sommer 1969 das Physikum ab.

Ich habe mich jetzt, im Sommer 1972, zum medizinischen Staatsexamen gemeldet.

